

Universidad Nacional de Costa Rica  
Facultad de Ciencias de la Salud Escuela de  
Medicina Veterinaria

*PERFIL SANITARIO DEL CERDO Asilvestrado (Sus scrofa)*  
*De La Isla Del COCO - COSTA RICA*



Tesis de grado: Para optar por el título de Licenciado en  
Medicina Veterinaria

**Responsable: Mario Baldi Salas**

Tutor : Dr. Carlos Jiménez S.

Lectores: Dr. Alexis Berrocal  
Dr. Juan José Romero

HEREDIA  
Noviembre del 2000

## Agradecimientos:

### **Personal de la Isla del Coco**

Fernando Quirós ( Director de ACMIC)

Avi Kleppar

Al personal de los Under Sea Hunter

Al personal de Okeannos Aggressor

**A los los cazadores:** Don Will, Eduardo, Keylor, Marcos, Quillo y Felipe.

Hugo Figueroa

El Coronel Mechú Calvo

Dr. Alexis Berrocal

Dr. Carlos Jiménez

Dr. J.J. Romero

Dra. Gaby Dolz

Jorge Piedrita

Jorge Prendas

Rocío

Dafne

Dr. Carlos Calleja

**Viqui Mercedes**

Dr.Roberto Del Valle

LANASEVE

**Muy especialmente a:**

**Claudine Sierra**

**Mariana Altrichter**

**Jordi Hernández**

**Liz Fallas**

**DEDICATORIA:**

**A mi padre Francisco Baldi († 22-7-98)**

**A mi madre Cecilia Salas**

**A mis hermanos**

**A Patú († 22-7-98)**

**Rico**

**Penélope**

## Índice

|  |          |    |
|--|----------|----|
| Introducción                           | 1        |    |
| <b>La Isla del Coco en la Historia</b> | <b>3</b> |    |
| <b>Propósito del Estudio</b>           | 5        |    |
| <b>Objetivos de Estudio.</b>           |          |    |
| Objetivo General                       | 6        |    |
| Objetivos Específicos                  |          | 6  |
| <b>Materiales Y Métodos</b>            |          |    |
| Área de estudio                        | 8        |    |
| Muestra                                | 9        |    |
| Trabajo de Campo                       |          | 10 |
| Trabajo de Laboratorio                 | 11       |    |
| Serología                              |          | 11 |
| PVP.                                   |          | 11 |
| SRRP                                   |          | 14 |
| Aujeszky                               |          | 15 |
| LPMV                                   |          | 17 |
| VEV                                    |          | 18 |
| Rotavirus porcino                      |          | 19 |
| Cólera porcino                         |          | 20 |
| TGE                                    |          | 21 |
| Brucelosis                             |          | 22 |
| Leptospirosis                          |          | 23 |
| Análisis histopatológicos              | 23       |    |
| Análisis de Parasitología              | 23       |    |
| Exámenes de Conceptos                  | 24       |    |
| Estadística                            |          | 24 |
| <b>Resultados</b>                      |          |    |
| Área de estudio                        | 25       |    |
| Muestra                                | 25       |    |
| Necropsias en Campo                    |          | 26 |
| Trabajo de Laboratorio                 |          |    |
| Serología.                             |          | 28 |
| Virología                              |          | 28 |
| Bacteriología                          |          | 30 |
| Hallazgo de Histopatología             |          | 30 |
| Paasitología                           |          | 32 |
| Análisis de Conceptos                  |          | 32 |
| <b>Discusión</b>                       |          | 33 |
| <b>Conclusiones</b>                    |          | 37 |
| <b>Limitantes</b>                      |          | 38 |
| <b>Anexos</b>                          | 40       |    |
| <b>Bibliografía</b>                    |          | 41 |

### Abreviaturas

ABTS: Ácido 2-2'-Azino-di-3atthylbenzthyazidinsulfonat.  
 Ac: anticuerpos

ACMIC: Área de Conservación Marina Isla del Coco  
AP: Aglutinación en Placa  
C: Carne (rata, ave)  
DO: Densidad óptica  
DOP: Densidad Óptica Absorbida  
EMV-UNA: Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Nacional  
ELISA: Inmunoensayo  
Feral: Se entenderá para este estudio, como sinónimo de asilvestrado.  
GET: Gastroenteritis Transmisible  
gl: Globulina  
H: Hembra  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peroxidasa  
HC: Hígado cirrótico  
HRP: Peroxidasa conjugado anti  
IF: Inmofluorecencia  
IHA: Inhibición de la hemoaglutinación  
L: Lombriz  
LANASEVE: Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios  
LPMV: Virus de la Piedad de Michoacán  
M: Macho  
MAG: Ministerio de Agricultura y Ganadería  
ND: No Determinado  
NFDm: Leche en Polvo Libre de Grasa  
NHC: Control de células no infectadas  
P: Parásito  
PBS: Solución Salina Tamponada  
PI: Porcentaje de Inhibición  
PPC: Cólera Porcino  
PVP: Parvo virus Porcino  
RP: Riñón Parasitado  
rpm: revoluciones por minuto  
S/P: Coeficiente de Absorción  
SRRP: Síndrome Respiratorio, Reproductivo Porcino  
TGE/PRCV: Corona virus Porcino Respiratorio  
TGEV: Corona virus Porcino Entérico  
TMB: Tetrametilbencidina  
UHA: Unidad Hemoaglutinate  
V: Vegetal  
VEN-IN: Virus de Estomatitis Vesicular cepa Indiana  
VEN-NJ: Virus de Estomatitis Vesicular cepa New Jersey

A aparentemente he sido como un niño, jugando frente al mar, mientras el océano del conocimiento estaba frente a mí.

Isaac Newton.

## INTRODUCCIÓN

Los diferentes ecosistemas son sumamente sensibles a los cambios producto de la intervención humana en primera instancia y al efecto alterador que se da por la presencia de especies exóticas, las cuales, resultan en transformaciones y alteraciones, que muchas veces, son irreversibles para los hábitats invadidos (Sierra, 1998).

La actividad de las especies exóticas ha generado desequilibrio en los ecosistemas que han invadido (Coblentz et al., 1990). Estas especies introducidas pueden desplazar o reducir a las especies nativas, alterando los ciclos biológicos y bioquímicos, lo que lleva a aumentar la posibilidad de invasión de otras especies exóticas (Crawley, 1986; Hobbs and Huenneke, 1992). Además, se les asocia con una de las tres mayores causas de pérdida de biodiversidad global (King 1985; Altkinson, 1989). De todas las extinciones reportadas entre 1600 y 1980 se estimó que un 76% de reptiles y anfibios hasta un 70% de aves lo causó la presencia de animales exóticos introducidos (Altkinson, 1989).

Entre la especies de mamíferos exóticos, los cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*), han sido catalogados como una de las especies más perjudiciales (Hanson and Karstad, 1959; Diong, 1982; Tate, 1984; Saunders, 1988; Stallknecht et al., 1993). Es una de las más extensamente introducidas en los diferentes hábitats y se le puede encontrar en todos los continentes menos en la Antártida (Kotanen, 1995).

Los hábitos alimenticios de esta especie pueden afectar el ecosistema invadido, ya sea predando sobre especies nativas o como alterador de los suelos por su actividad de hoceo (Saunders, 1988). Dentro de los daños producidos en la actividad de hoceo se enumeran la modificación en la vegetación herbácea (Brantton, 1978), la reducción en el número de árboles nativos, la dispersión de semillas de especies exóticas, la precipitación de la erosión de los suelos (Diong, 1982), la reducción de la cobertura de la hojarasca y la aceleración del lavado de minerales (Singer et al., 1984).

Junto a esto, su comportamiento de revolcarse en el lodo aumentó los hábitats de ciertos artrópodos (*Culex pipiens*) transmisores de enfermedades tales como malaria, entre otras, de gran importancia zoonótica (Pirttle et al., 1989; Stallknecht et al., 1993).

En algunos países, se han realizado estudios del impacto que tienen las poblaciones de cerdos ferales como reservorios de enfermedades tales como Aujeszky, Cólera Porcino, Brucellosis, Estomatitis Vesicular entre otras, al igual que la presencia de poblaciones de parásitos potencialmente peligrosos para humanos y cerdos domésticos, determinando que muchas de ellas realmente actúan como reservorios y limitan en gran medida los programas de erradicación de estas enfermedades (Clark et al., 1983., Prittle et al., 1989., Stallknecht et al., 1993.). Igualmente estas enfermedades tienen algún efecto pernicioso sobre las poblaciones nativas residentes de las zonas (Corn et al., 1986; Pence et al., 1988; Nettles et al., 1989; Woods et al., 1990; Lord et al., 1991; Eslami et al., 1992; Van der Leek et al., 1993; Stallknecht et al., 1993).

Para mediados de la década de 1950, ya se habían iniciado las investigaciones sobre la presencia de agentes infecciosos y parasitarios en las poblaciones de cerdos asilvestrados de los Estados Unidos (Giffin, 1978; Smith et al., 1982).

En investigaciones más recientes se determinó que en los estados de Texas, Florida y en los sistemas insulares del estado de Georgia, la presencia de Aujeszky era evidente en los cerdos asilvestrados, y que además, estas poblaciones actuaban como reservorios del virus, poniendo en peligro los programas de erradicación de esta enfermedad en los Estados Unidos. Junto a esto, la diseminación y el impacto negativo de la enfermedad de Aujeszky en la población de cerdos asilvestrados, amenaza otras poblaciones de animales silvestres de esas áreas, tal es el caso del Puma (*Puma concolor*), ya de por si en peligro de extinción, que se alimenta, en gran parte, de cerdos ferales (Corn, 1986; Pirtle et al., 1989; Van der Leek, 1993).

Entre 1979 a 1987 se realizaron una serie de estudios de vigilancia epidemiológica para el Cólera Porcino y Gastroenteritis Transmisible de los cerdos ferales de los sistemas insulares de Santa Cruz y Santa Rosa en California y en el sudeste de Estados Unidos respectivamente. Pues para la década de los 50 el Cólera Porcino había sido introducido deliberadamente en estas islas Californianas, este estudio dio resultados negativos al igual que con el virus de Gastroenteritis Transmisible realizado en las poblaciones de cerdos ferales y domésticos de los estados de Texas, Florida y Georgia (Nettles et al., 1989; Woods et al., 1990). En algunos estudios sobre la presencia del virus de Estomatitis Vesicular se postuló que el cerdo feral podría servir de reservorio de esta enfermedad



jugando un papel importante en la perpetuación del virus en la naturaleza. Esto es algo que no se ha podido comprobar, aunque tampoco se ha podido negar. Se han determinado las áreas enzoóticas de este virus en las islas Champeney y Rhetts en California, así como en la Isla Ossabaw en Georgia (Fletchers, 1985; Stallknecht et al, 1986; Stallknecht et al, 1993).

Estudios más amplios se han efectuado con la leptospirosis y brucelosis en diferentes áreas de Estados Unidos y el Caribe, pues son enfermedades de importancia en salud pública. Se determinó la presencia de estas enfermedades en las poblaciones de cerdos ferales, e igualmente se determinó la influencia en la transmisión a poblaciones de cerdos domésticos y a grupos humanos, concluyendo que esta transmisión se puede dar de diferentes maneras (Zygmunt et al., 1982; Everard et al., 1983; Clark et al., 1983; Corn, 1986; Van der Leek, 1993).

Los efectos negativos de la presencia de cerdos ferales como especies exóticas en ciertos hábitats, se ven aumentados en los ecosistemas insulares que han evolucionado por largo tiempo aislados, como son las islas Galápagos, Hawaii, Nueva Zelanda, Diego García, Tristán de Acunha, Santa Helena, etc. (Carlquist, 1974; Bramwell, 1979; Wace and Ollier, 1982; King, 1984; Vitousek, 1988; Chapuis et al., 1995).

En la Isla de Coco los cerdos ferales, al igual que las cabras (*Capra hircus*), fueron introducidos hacia **1793** por el capitán inglés James Colnett con su buque ballenero. Ambas especies fueron liberadas conjuntamente en la isla con el fin de asegurar el abastecimiento de carne para futuras expediciones balleneras (Montoya, 1990). Adicionalmente, voluntaria o involuntariamente, se introdujo otras especies de mamíferos como gatos (*Felis catus*), ratas (*Ratus ratus* y *Ratus noevergicus*) y venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) (Mora y Barrantes, 1995).

Por su localización y características geográficas, en la Isla del Coco se han dado fenómenos evolutivos divergentes y se han desarrollado especies de plantas y animales endémicos (Mora y Barrantes, 1995). En lo que respecta a animales, en la isla hay cinco especies endémicas de vertebrados: el anolis del coco (Iguanidae), el geko (Gekkonidae), el cuclillo (Cuculidae), el mosquitero (Tyrannidae) y el pinzón (Emberizidae) (Sierra, 1998). Sobre estas especies nativas puede haber un efecto negativo directo o indirecto a causa de la presencia de las especies exóticas introducidas a lo largo del tiempo, el cual sólo recientemente se está estableciendo (Sierra, 1998).

### **La Isla del Coco en la Historia.**

La isla del Coco pasó inadvertida para los marinos hasta **1526** cuando fue descubierta por el navegante español Don José Cabecas (Chaves, 1995). En los siglos **XVII** y **XVIII** fue visitada frecuentemente por balleneros y piratas como F. Drake, Benito Bonito, etc. (Morgan, 1683; Pittier, 1898). Se dice que en el año de **1816** Benito Bonito escondió un gran tesoro en la isla y que en **1821** igualmente fue escondido el famoso tesoro de Lima (Jinesta, 1937). Esto generó que se organizaran varias expediciones para la búsqueda de estos y otros tesoros. Ya para **1846** y **1935** por lo menos 17 expediciones reconocidas se habían efectuado, en busca de estos en la Isla (Guido, 1935).

En el año de **1869** bajo la administración de Jesús Jiménez, una expedición costarricense con Don Rafael de Oreamuno al mando, visitó y se instaló en la Isla por dos semanas y a partir de esa fecha se considera a la isla como parte del territorio nacional (Chaves, 1995). Desde **1874** y hasta **1877** funcionó en la isla un presidio (cerca de bahía Chatham), y durante este tiempo se desarrollaron ciertas actividades agrícolas (Alfaro, 1898).

En **1889** se instaló en la Isla el capitán Gissler, quien se quedaría por 16 años y sería nombrado por el Gobierno de Costa Rica como gobernador de esos territorios. Durante su estadía vivió junto a 13 familias alemanas que trabajaron en la “Compañía de Agricultura de la Isla del Coco” (Jinesta, 1937). Dichas familias construyeron casas y cultivaron una zona de 50 hectáreas con bananos, frijoles, frutas, café, entre otros productos agrícolas (Pittier, 1898; Jinesta, 1937). Estas familias llevaron vacas, perros, y gallinas que no se asilvestraron, mas cerdos que mantuvieron en cautiverio (Alfaro, 1898; Jinesta, 1937).

En **1978** la isla fue nombrada Parque Nacional y Reserva Biológica. En el período que va de **1978** hasta **1992** fue ocupada por dos funcionarios de la Policía Naval y a partir de **1993** la isla pasa a ser administrada por el Servicio de Parques Nacionales, el cual instaló su personal y desde entonces protege el área terrestre y marina. Finalmente, en

**1997** el Área de Conservación Marina Isla del Coco pasa a ser Patrimonio de la Humanidad por decisión de las Naciones Unidas (Sierra, 1998).

## PROPÓSITO DEL ESTUDIO.

En el Plan de Manejo de la Isla del Coco de 1995, la solución al problema de los cerdos asilvestrados es una de sus prioridades. Por ello desde la perspectiva del Programa de Manejo de Vida Silvestre de la Universidad Nacional y del Área de Conservación Marina Isla del Coco (ACMIC) se debe crear e implementar, urgentemente, un plan de erradicación de los cerdos ferales (*Sus scrofa*) de la Isla del Coco.

Dentro de las posibilidades que se ha esbozado, está la introducción de algún agente patógeno, exclusivo de los cerdos, que reduzca significativamente o extermine los animales asilvestrados. Ante esta posibilidad, surge entonces, la necesidad de conocer el estado sanitario y así deducir la susceptibilidad de los cerdos ferales de la Isla del Coco a distintos agentes infecciosos y con ello contar con la información necesaria para asegurar que, aquellas decisiones que eventualmente se tomen a futuro con el uso de agentes biológicos patógenos, sean bien fundamentadas, desde la perspectiva de su efectividad en la erradicación del cerdo feral y también, de qué manera podrían poner en peligro el ecosistema de la isla.

Por todo lo anterior el presente trabajo final de graduación, tiene como propósito establecer cuáles son los principales agentes patógenos que pueden estar afectando a la población de cerdos ferales de la Isla del Coco y, con ello, establecer el primer perfil sanitario de esa población. La idea fundamental es dar a conocer este perfil sanitario a las autoridades respectivas y que a partir de ahí, se pueda tomar las decisiones más acertadas para el ecosistema de la isla y crear así una opción más en el control del problema de los cerdos ferales (vía uso de algún agente biológico o combinaciones de diferentes métodos de erradicación en que se tome en cuenta algún agente o agentes biológicos patógenos). Adicionalmente, la presente tesis de licenciatura, pretende establecer el potencial zoonótico de algunas enfermedades que afectan a los cerdos asilvestrados, en particular para el personal destacado en la isla o para los visitantes a esa región insular. Por último, la información que se genere, servirá para evaluar el potencial papel de reservorio de agentes infecciosos “exóticos”, de los cerdos asilvestrados de la Isla del Coco, para la producción porcina nacional continental.

### OBJETIVOS GENERALES.

- Establecer un perfil sanitario de la población de cerdos ferales (*Sus scrofa*) de la Isla del Coco.
- Determinar la presencia o ausencia de agentes patógenos zoonóticos en los cerdos asilvestrados (*Sus scrofa*) de la Isla del Coco.
- Conocer la existencia o ausencia de agentes infecciosos “exóticos”, en los cerdos asilvestrados de la Isla del Coco, que puedan representar un riesgo para la producción porcina nacional continental.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Establecer, serológicamente, la presencia de los siguientes agentes virales en cerdos ferales de la Isla del Coco.
  - a. Virus de la enfermedad de Aujeszky (Herpesviridae).
  - b. Virus del Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino “**SRRP**” (Arteriviridae).
  - c. Rotavirus Porcino (Reoviridae).
  - d. El Virus de La Piedad de Michoacán “**LPMV**” (Paramixoviridae).
  - e. Gastroenteritis Transmisible Porcina (entérico y respiratorio) “**GET**” (Coronaviridae).
  - f. Cólera Porcina “**PPC**” (Flaviviridae).
  - g. Parvovirus Porcino “**PVP**” (Parvoviridae).
  - h. Estomatitis Vesicular serotipos Indiana y New Jersey (Rabdoviridae).
- Identificar la presencia de endoparásitos así como ectoparásitos en los cerdos ferales.
- Conocer si los cerdos ferales portan alguna enfermedad zoonótica, entre ellas cisticercosis (*Taenia solium*), Leptospirosis (*Leptospira sp.*) y Brucelosis (*Brucella sp.*).

- Determinar la posible presencia de patógenos, en cerdos de la Isla, que no están presentes en el continente (tales como parásitos o agentes vírales exóticos en Costa Rica).
- Identificar las lesiones anatómicas e histopatológicas más frecuentes en cerdos ferales de los Cerdos de la Isla del Coco.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio.

La Isla del Coco está ubicada a 555 Km al suroeste de la costa pacífica de Costa Rica, en las coordenadas planas 5°32'57" norte, 86°59'17" oeste. Posee una superficie de 24 Km<sup>2</sup> (Chaves, 1995; Sierra, 1998).

Se le considera como una isla oceánica de origen volcánico eruptivo e intrusivo y su génesis se dio hace unos 1.9 a 2.4 millones de años (Castillo et al., 1988). Sus suelos presentan características muy asociadas a su topografía, suelos arcillosos, suaves, con una capa orgánica de gran desarrollo. En las laderas, donde los suelos no tienen más de 50 cm de espesor, la roca madre aflora con mucha frecuencia. Los suelos son marcadamente ácidos, bajos en calcio, magnesio, fósforo y sodio (Brenes y González, 1995; Sierra, 1998).

La temperatura media anual varía entre los 24 y 26°C. Los niveles de precipitación alcanzan un promedio de 6500 mm anuales. Las lluvias son constantes sobrepasando con frecuencia los 100mm diarios. Posee una breve estación seca que va de enero a marzo (Montoya, 1990; Sierra, 1998).

La topografía es ondulada con desarrollo de valles en "V" y la mayor altura alcanza los 634 m.s.n.m. y se registra en el cerro Yglesias donde se alberga el bosque nuboso (Sierra, 1998). La línea litoral está constituida por acantilados de roca volcánica que en su mayoría son casi verticales (hasta 200m.s.n.m). La zona de vida cubre la totalidad de la isla y es de bosque pluvial premontano, transición a basal (Bolaños and Watson, 1993).

La flora del dosel que cubre toda la isla, salvo los acantilados, alcanza los 20 metros de alto y predomina el palo de hierro (*Saccoglottis holdrididgei*), azahar de montaña (*Clusia rosea*), palmitos (*Euterpe macrospadix*), aguacatillos (*Ocotea insularis*) y algunos higuerones (*Ficus sp*). El dosel es cerrado salvo por algunos huecos causados por la caída de grandes árboles (Dulphin, 1995).

En la isla hay cinco especies de endémicas de vertebrados: anolis del coco (*Norops townsendi*), el geko (*Sphaerodactylus pacificus*), el cuclillo (*Coccyzus ferrugineus*), el mosquitero (*Nezotriccus ridgwayi*), el pinzón (*Pinarolaxias inornata*). Los islotes y rocas que rodean la isla alojan colonias de anidamiento de aves marinas migratorias y residentes. Hay cinco especies de mamíferos introducidos: cerdos (*Sus scrofa*), venado cola blanca

(*Odocoileus virginianus*), cabras (*Capra hircus*), gatos (*Felis catus*), y ratas (*Ratus rattus* y *Ratus norvegicus*) (Mora y Barrantes, 1995).

### **Muestra.**

Para definir la muestra se partió del conocimiento de la prevalencia establecida en Costa Rica para las enfermedades virales porcinas evaluadas por Ugalde (1998), junto con el número de individuos estimado por Mora y Barrantes (1995) de la población de cerdos ferales en la Isla de Coco. El tamaño de la muestra fue calculado por medio del programa estadístico WinEpiscope versión 1.0 (Epidicon), tomando una población estimada de 3000 cerdos con un 95 % de confianza y una prevalencia del 5% para todas las enfermedades, utilizando la fórmula de Canon and Roe (1982) citados por Martín et al., (1987) y el estimado fue de 58 muestras de suero. La muestra del presente estudio comprendió 63 animales de diferentes áreas, a los que se les practicó las necropsias en campo y las diferentes pruebas serológicas (antes citadas) en laboratorio.

$$\text{FORMULA: } n = (1 - (1 - \alpha)^{1/d}) \times \left[ \frac{N - (d - 1)}{2} \right]$$

n = Tamaño de muestra.

$\alpha$  = Probabilidad de encontrar un caso (= nivel de confianza).

d = Número de casos detectables en la población.

N = Tamaño de la población.

El 5% de prevalencia tiene la siguiente justificación:

- Es el máximo de prevalencia que permite el número de muestra manejable para esta investigación, y que permite un resultado bastante fiable.
- Se puede pensar que la Isla del Coco de alguna manera está expuesta a la influencia del continente por el constante tránsito de personas que viajan o que residen en la isla.
- Estos cerdos tienen la probabilidad de comer desechos alimenticios del personal de la isla, así como de los barcos que están de visita en la isla.

La prevalencia según Ugalde (1998) fue superior al 15% en todas las enfermedades, excepto para Aujeszky.



## I. Trabajo de Campo.

Para el trabajo de campo se siguió el siguiente protocolo:

- a. Se determinaron las áreas de cacería (Fig.1 foto isla), con la idea de obtener las muestras lo más representativas de la población isleña.
- b. Con la colaboración del personal de la isla, se efectuó cacería (vía arma de fuego) de cerdos para la obtención de las muestras.
- c. Se registro el lugar de captura de cada espécimen y se le identificó apropiadamente.
- d. Se efectuaron las necropsias en campo, posteriormente se siguió el siguiente procedimiento: Se midió el animal de craneal a caudal para tener un estimado de su tamaño, se determinó la edad por medio de tiempo de erupción de la dentición (Matschke, 1967; Getty 1985; Sartin et al., 1999). Se sexaron, seguidamente se toma la muestra de sangre del corazón, o cuando es posible de la aorta o cava. Posteriormente se procedió a evaluar el estado de los órganos internos, tomando las muestras necesarias en el caso de aquellos que presenten algún tipo de alteración. En el caso de las hembras si estaban gestantes se contó los conceptos y se midieron. Se hizo observaciones del contenido estomacal, para conocer la dieta básica.
- e. Posteriormente las muestras de tejido fueron conservadas en frascos con formalina al 10%. Las muestras de sangre fueron separadas, mediante centrifugación, de la fase celular del suero y congeladas para su almacenamiento y futura evaluación serológica.
- f. Los parásitos encontrados se conservaron en una solución de alcohol-glicerol-formalina "AFA", para su identificación y donación al laboratorio de Parasitología de la Escuela de Veterinaria de la U.N.A.

## II. Trabajo de Laboratorio.

### Serología

#### PARVOVIRUS PORCINO “PPV”

El diagnóstico de los anticuerpos de parvovirus porcino se realizó mediante las técnicas de Inhibición de la Hemoaglutinación (I.H.A) empleando una suspensión de eritrocitos de cobayo al 1% y ELISA (SVANOVA<sup>®</sup>).

#### Inhibición de la Hemoaglutinación (I.H.A)

##### Preparación de los eritrocitos de Cobayo

##### Materiales.

##### Solución Salina Tamponada (P.B.S.).

|   |         |
|---|---------|
| NaCl  | 8.00 g. |
| KCl   | 0.20 g. |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                   | 0.20 g. |
| Na <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 2H <sub>2</sub> O | 1.15 g. |
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> csp                 | 1000ml. |

Esterilizado mediante filtración y almacenado a 4°C.

##### Solución Alsever.

|                   |         |
|-------------------|---------|
| Dextrosa          | 20.5 g. |
| Citrato de Sodio  | 8.00 g. |
| Acido Cítrico     | 0.55 g. |
| Cloruro de Sodio  | 4.20 g. |
| Agua Biodest.csp. | 1000ml. |

Esterilizada mediante filtración a 0.22 µm y almacenada a 4°C.

**Procedimiento.**

Los eritrocitos de cobayo se extrajeron, mediante punción cardíaca. La cantidad de sangre colectada fue de 4 a 5 ml en tubos que contenían un volumen equivalente del anticoagulante Alsever. La sangre se centrifugó a 4000 r.p.m., eliminado el sobrenadante y se adicionó PBS, a un ph 7.2 volviendo a suspender los glóbulos rojos en el PBS y centrifugando nuevamente. Repitiendo este procedimiento tres veces más. Los eritrocitos son almacenados a 4°C si se van a utilizar antes de una hora, de lo contrario se le adiciona solución de Alsever y se almacena a igual temperatura por tres o cuatro días.

**Titulación del virus.**

El antígeno utilizado fue Parvovirus Porcino de cepa española, donado por el CISA (Centro de Investigaciones en Salud Animal, Madrid, España), y cultivado en la línea celular PK-15. Se utilizaron placas con fondo en forma de “V” y se siguió el procedimiento descrito por el laboratorio de Virología U.N.A. Brevemente, con la ayuda de una pipeta multicanal, se preparó diluciones seriadas en base dos del antígeno viral en PBS. Como sistema indicador se utilizó en una suspensión de eritrocitos de Cobayo al 1% y posteriormente se incubó a 4°C por 1 hora. Luego se realizó la lectura y se registró el resultado. La suspensión de antígeno víal se ajustó a 4-8 unidades hemoaglutinantes (UHA) por 50µl.

**Tratamiento de los Sueros.**

Los sueros que estuvieron almacenados primero a -20°C y luego a -70°C, se descongelaron a temperatura ambiente y se tomó una alícuota de 10µl y se colocó en tubos Eppendorf para proceder a su inactivación a 56°C por 30 minutos. Posteriormente se preparó una dilución (1:10) en PBS y se procedió a absorberlo con 50µl de eritrocitos de Cobayo, empacados, a 4°C durante 24 horas. Finalmente se centrifugó a 3000 r.p.m. en una centrifuga Eppendorf ( Eppendorf Brinkmann, modelo 5415) durante 5 minutos. El sobrenadante se extrajo y se utilizó para hacer la prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación (I.H.A.).

### **Prueba de Inhibición de la Hemoaglutinación.**

Se utilizaron placas de microtítulo con fondo en “V” de la marca **Costar**<sup>®</sup> y se les depositó un volumen de 100µl de cada suero por pocillo. Los restantes pocillos se llenaron con 50µl de PBS, luego, con la ayuda de una pipeta multicanal, se hicieron diluciones dobles de cada suero desde 1:10 hasta 1: 20480. Las columnas A de cada placa se utilizaron como controles de glóbulos rojos y las B como controles de virus. Luego se les adicionó 50µl del virus de PVP que contenía de 4-8 U.H.A. titulada previamente. Se incubó por una hora a temperatura ambiente y luego se agregó 50µl de suspensión de eritrocitos de Cobayo al 1% a toda la placa y se incubó a 4°C por una hora. Finalmente se procedió a la lectura, registro e interpretación de los resultados obtenidos. La muestra se consideró positiva a PPV cuando se presentaron títulos iguales o superiores a 1 : 20 y negativos aquellos que presentaron títulos inferiores a este valor.

### **ELISA para detección de anticuerpos a PVP.**

Se utilizó un ELISA competitivo para anticuerpos en suero, prueba comercial de la casa **SVANOVA (SVANOVIR**<sup>®</sup>), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Brevemente,

1. Todos los reactivos fueron llevados a temperatura ambiente antes de ser usados y se procedió a la preparación de las soluciones.
2. Se disuelve un comprimido de PBS Tween en 500ml de agua destilada.
3. Se lava la placa tres veces con el buffer de PBS Tween y se secan todos los pocillos sin que queden residuos de líquido en los pocillos.
4. Se adiciona 90 µl de PBS tween en cada pocillo se incluye los pocillos para los controles.
5. Se adiciona 10 µl del suero control positivo y 10 µl del suero control negativo en los pocillos asignados. Luego se agrega 10 µl de cada suero sin diluir en cada pocillo asignado. Se agrega 100 µl del conjugado antiparvovirus-peroxidasa en todos los pocillos y se mezcla suavemente y la placa se incubaba a temperatura ambiente por 30 minutos.

6. Se vacían los pocillos y se procede a lavar con PBS tween tres veces como se explicó anteriormente.
7. Se le adiciona posteriormente 100 µl de sustrato a toda la placa y se deja incubar por 10 minutos a temperatura ambiente. La reacción se detiene al agregar 50 µl de una solución “stop” de ácido sulfúrico, a toda la placa.
8. Se deja reposar 15 minutos después de haber detenido la reacción y se procede a leer en el espectrofotómetro (Labsystems Multiskan MS modelo: 352000) a una longitud de onda de 450 nm. Se procede a registrar los datos y se calculan los resultados por medio de la siguiente fórmula:

$$PI = \frac{(DO_{muestras}^* \times 100)}{DO_{control\ negativo}}$$

\* = densidad óptica

**Cuadro 1: Interpretación de los resultados de PVP mediante ELISA competitivo.**

| <b>% de Inhibición.</b> | <b>Interpretación.</b> | <b>Condición del animal.</b>          |
|-------------------------|------------------------|---------------------------------------|
| <b>&lt; 50%</b>         | <b>Negativo</b>        | <b>Ausencia de Ac* de PVP</b>         |
| <b>50-80%</b>           | <b>Positivo</b>        | <b>Presencia leve de Ac* de PVP</b>   |
| <b>&gt; 80%</b>         | <b>Positivo fuerte</b> | <b>Presencia fuerte de Ac* de PVP</b> |

\* Anticuerpos en suero.

### **SÍNDROME REPRODUCTIVO RESPIRATORIO PORCINO “SRRP”**

Este estudio se realizó utilizando la técnica de ELISA indirecto, empleando una prueba comercial de la casa fabricante **IDEXX®**, siguiendo las instrucciones del fabricante. Esta prueba posee una especificidad y sensibilidad del 95%.

Previo a su uso todos los reactivos fueron llevados a temperatura ambiente, mezclados por agitación y se procedió a preparar las diferentes soluciones. El material, luego de su uso, se almacenó a una temperatura de 2-4°C. Las muestras de suero fueron diluidas 1:40 en el tampón respectivo.

Se colocó 100 µl del suero por duplicado, una columna corresponde a antígeno viral (SRRP) y la otra a un control de células no infectadas (NHC), y 100µl de los sueros

controles positivos y negativos. Se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente. Luego se aspiró el contenido de los pocillos y se les lavó con 300µl de solución de lavado en tres ocasiones, aspirando el contenido de la solución en cada lavado, previa agitación de cada placa.

Posteriormente se añadió 100µl de Conjugado Anti-inmunoglobulina-porcina-peroxidasa a cada pocillo y se incubó por 30 minutos a temperatura ambiente. Se preparó la solución sustrato TMB (minutos antes de ser usada). Se lavó nuevamente las placas de la manera antes descrita y se adicionó 100µl de sustrato. Se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente y finalmente se les agregó 100µl de solución de interrupción de la reacción (stop) en toda la placa. La densidad óptica (D.O) de la placa se midió a 450 nm y se registró los valores. Se realizó el cálculo pertinente por medio de la siguiente fórmula:

$$S/P = \frac{\text{Densidad de la muestra: SRRP} * (\text{DO de muestra NHC})}{(\text{PC: SRRP-PC:NHC})}$$

**Cuadro 2: Interpretación de los resultados de la prueba ELISA para SRRP.**

| <b>Coefficiente S/P.</b>  | <b>Valores.</b>   | <b>Condición del Animal.</b>             |
|---------------------------|-------------------|--|
| <b>&lt; 0.3</b>           | <b>Negativo</b>   | <b>No hay presencia de Ac* para SRRP</b> |
| <b>&gt;0.3 y &lt; 0.4</b> | <b>Sospechoso</b> | <b>Sospechoso o Dudoso</b>               |
| <b>≥ 0.4</b>              | <b>Positivo</b>   | <b>Hay presencia de Ac a SRRP</b>        |

\*= Anticuerpos

### **ENFERMEDAD DE AUJESZKY.**

Este estudio se realizó con una prueba de ELISA bloqueante de la casa comercial BEHRING (INGELVAC® AUJESZKY DIAGNOSTIC KIT). Los antígenos fijados a pocillos de reacción fijan anticuerpos gl y gll existentes en el suero a analizar. Los anticuerpos gl y gll están presentes en los animales expuestos al virus en campo y sólo presentan anticuerpos gll los animales vacunados pero que no han sido expuestos al virus de campo.

1. Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente (18 a 25°C) antes de ser utilizados.
2. Retirar el número requerido de tiras individuales y colocarlas en el marco de plástico de una placa de ELISA.
3. Añadir 100µl del suero de referencia gl positivo / gll positivo (reactivo A) y 100µl del suero de referencia gl / gll negativo (reactivo C) en cada uno de los pocillos de reacción correspondientes.

Si las muestra de suero se analizan frente a las glicoproteínas gl y gll, debe introducirse también en el pocillo correspondiente 100µl de suero de referencia gl negativo / gll positivo (reactivo B).

4. Añadir 100µl de cada uno de los sueros sin diluir en cada uno de los pocillos correspondientes.
5. Sellar las tiras individuales e incubar a 37°C durante una hora.
6. Vaciar seguidamente los pocillos, enjuagar tres veces con la solución de lavado (mínimo 300µl por pocillo) y eliminar totalmente el líquido.
7. Añadir 100µl de conjugado anti-gl-HRP (reactivo 1) por pocillo en la hilera de pocillos de reacción para el conjugado anti-gll-HRP (reactivo 2) por pocillo en la hilera para el conjugado gll.
8. Sellar las placas de microtítulo e incubar a 37°C durante 30 minutos.
9. Repetir el proceso descrito en el punto 6.
10. Añadir 200µl de una solución de sustrato recién preparada a cada pocillo e incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente (18 a 24 °C). Comenzar a medir el tiempo a partir del momento en que se haya llenado el primer pocillo de reactivo.
11. Añadir 50µl de solución bloqueante a cada pocillo siguiendo el mismo orden con que se añadió la solución de sustrato.

12. Medir los valores de absorción (DO) de las muestras de suero y de los sueros referencia utilizando el espectrofotómetro de placas a una longitud de onda de 450 nm.

$$\text{DOP} = \frac{\text{DOP}^{**} \text{ de muestra} \times 100}{\text{DOP de sueros de referencia}}$$

\*\* = Valores de Absorción

**Caudro 3: Interpretación de los valores de la prueba de “Aujeszky”.**

| <b>Absorción</b>    | <b>Diagnóstico</b> | <b>Condición del Animal</b>         |
|---------------------|--------------------|-------------------------------------|
| <b>≤ 60</b>         | <b>Positivo</b>    | <b>Presencia de Ac* frente a gI</b> |
| <b>&gt; 70</b>      | <b>Negativo</b>    | <b>Ausencia de Ac* frente a gI</b>  |
| <b>&gt; 60 ≤ 70</b> | <b>Dudoso</b>      | <b>Dudoso</b>                       |

\*= Anticuerpos

### **VIRUS DE LA PIEDAD DE MICHOACÁN “LPMV”**

Para detectar anticuerpos de este virus, se utilizó un “test” de ELISA bloqueante, posee una sensibilidad y especificidad de 95%. Esta prueba es de la casa comercial SVANOVA® y fue gentilmente donado por el profesor Dr. Jorge Moreno López de la Universidad Agrícola de Uppsala, Suecia.

Previo a realizar la prueba todos los reactivos son colocados a temperatura ambiente (18-26°C). Se lava la placa de microtítulo tres veces, con solución PBS Tween, hasta que todo el líquido halla desaparecido. La solución se prepara antes de usarse según las especificaciones del fabricante a razón de un comprimido por 500ml de agua destilada.

Se adiciona 100µl de suero a evaluar en cada pocillo y solución control positivo y negativo en los pocillos correspondientes, se mezclan uniformemente. La placa se deja incubar por una hora a temperatura ambiente en un agitador. Pasado este tiempo se procede a lavar 3 veces con la solución de lavado y todo el líquido es removido.

Se adiciona 100µl de Conjugado anti virus La Piedad Michoacán-Peroxidasa en cada pocillo, dejando incubar por 10 minutos a temperatura ambiente. De nuevo se lava tres veces con la solución de lavado.



Se agrega el sustrato y se incuba por 10 minutos a temperatura ambiente. La reacción se detiene al adicionar 50µl de solución de frenado en toda la placa, se mezcla uniformemente y se lee en el espectrofotómetro a una densidad óptica de 450nm, usando como blanco el aire. Se procede a reportar la lectura y a realizar los cálculos correspondientes siguiendo la siguiente fórmula:

$$PI = \frac{(DO \text{ control negativo} - DO \text{ de la muestra}) \times 100}{DO \text{ control negativo.}}$$

**Cuadro 4: Interpretación de Resultados para Diagnóstico de LPMV:**

| <b>Porcentaje de Inhibición.</b> | <b>Valoración.</b> | <b>Condición del Animal.</b> |
|----------------------------------|--------------------|------------------------------|
| > 35%                            | <b>Positivo</b>    | <b>Hay presencia de Ac*</b>  |
| 25-35%                           | <b>Sospechoso</b>  | <b>Dudoso</b>                |
| < 25%                            | <b>Negativo</b>    | <b>No presencia de Ac*</b>   |

\*= Anticuerpos

### **ESTOMATITIS VESICULAR “VEV”**

Para la detección de los anticuerpos contra el virus de estomatitis vesicular se usó un ELISA competitivo. En esta prueba se evaluó la presencia de anticuerpos contra las serovariedades de New Jersey e Indiana.

El antígeno recombinante (proteína N) del VEV-NJ y VEN-IN fue diluido 1:2500 en PBS 0.01M, a un pH 7.4, para luego agregar 75µl a cada pocillo a una microplaca de microtítulo (Polysorb, Nunc). Los pocillos G<sub>11</sub> y G<sub>12</sub>, se utilizaron como blanco. La placa se incubó a 4°C por 16 horas, decantando el líquido posteriormente. Se procedió a bloquear los pocillos con la solución de PBS 0.01M, 15% de leche en polvo sin grasa (NFDM), 100µl por pocillo, y se incubó por una hora a temperatura ambiente con agitación constante. Posteriormente las placas fueron lavadas tres veces con una solución de PBS 0.002M, 0.05% Tween-20.

Los sueros a evaluar fueron diluidos 1:8 en PBS 0.01M 1%M NFDm, y agregado por duplicado un volumen de 50µl a cada pocillo, menos a los pocillos: A<sub>1-2</sub> (control diluyente) que se le agregó PBS más 1% NFDm. Al pocillo G<sub>11</sub> (blanco) no se le agregó nada. Los pocillos H<sub>11-12</sub> son control positivo. Se incubó por 30 minutos a temperatura de 37°C en la cámara húmeda, más agitación.

Los anticuerpos monoclonales anti-VEV fueron diluidos 1:2500 en PBS 0.01M, 1% NFDm, agregando 50µl en cada pocillo, dejando incubar por una hora a 37°C en la cámara húmeda más agitación. Se procedió a lavar tres veces, como se explicó anteriormente, y se depositó 100µl por pocillo del conjugado cabra-anti IgG (H+L) ratón-peroxidasa (α ratón-HRP, Fa. Zymed), diluido 1:450 en 0.01M PBS, 1% NFDm, 12.5% suero de cabra y se incubó la placa a 37°C por una hora con agitación, y luego se lavó 3 veces como se describió anteriormente.

Finalmente se mezclaron 1.0 mg de 3,3',5,5'-Tetrametilbencidina dihidrocloruro (TMB), 20µl de peróxido de hidrógeno al 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), en 10ml de tampón fosfato-citrato 0.05M pH 5, agregando 50µl por pocillo. La reacción se detuvo con ácido sulfúrico 2M, a los 15 minutos, seguidamente se procedió a hacer la lectura de las densidades ópticas de cada pocillo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 450nm. Se procedió a hacer los cálculos siguiendo la siguiente formula:

$$\% \text{ de reducción} = 100 - \left[ \left( \frac{\text{promedio de DO de muestra}}{\text{promedio de DO del control de diluyente}} \right) * 100 \right]$$

Para ambos serotipos, los valores establecidos para bovinos positivos en Estados Unidos es de 50%, mientras que para los bovinos en Costa Rica es de 17%. (Gaby Dolz, comunicación personal 3-11-1999)<sup>1</sup>

### **ROTAVIRUS PORCINO.**

Para evaluar la presencia de anticuerpos a este virus se utilizó un prueba de ELISA indirecto.

<sup>1</sup> Dra Gaby Dolz, PhD: Virología. Laboratorio de Virología Universidad Nacional Costa Rica

Se procedió a sensibilizar las placas de microtítulo (Polysorb®, Nunc) con anticuerpo monoclonal 4D<sub>2</sub>B<sub>2</sub> diluido 1:10 en Buffer de Carbonatos pH 9.6 a razón de 100µl por pocillo. Se incubó a 4°C por 18-20 horas. Pasado este tiempo se procedió a descartar el líquido de las placas y se lavó 3 veces con una solución de PBS-Tween-caseína al 0.5%.

Se aplicó el antígeno Rotavirus Porcino (sobrenadante del cultivo de la cepa OSU) en proporción de 1:25 en Buffer PBS-Tween-0.5M NaCl y se agregó a cada pocillo de la placa un volumen de 100µl por pocillo, y se dejó incubar por dos horas a 37°C con agitación. Pasado este tiempo se procedió a descartar el líquido de las placas y a lavar tres veces con solución PBS-Tween, a razón de tres minutos en cada lavado.

Los sueros de los cerdos a evaluar fueron diluidos 1:100 en Buffer de dilución (PBS-Tween-0.5M NaCl) y se agregó a cada pocillo un volumen de 100µl y por duplicado. Se incubó por una hora a 37°C con agitación en la cámara húmeda. Pasado el tiempo se procedió a lavar como se describió anteriormente.

Se diluyó el conjugado anti-IgG de cerdo-peroxidasa 1:5000 en PBS-Tween-0.5M NaCl y se le agregó a cada pocillo un volumen de 100µl, luego se incubó nuevamente por una hora a 37°C con agitación en la cámara húmeda. Nuevamente, pasado este tiempo, se procedió a descartar el líquido y a lavar como se explicó anteriormente.

Se preparó el sustrato ABTS y se les agregó a las placas a razón de 150µl por cada pocillo. Se incubó a 37°C con agitación y se procedió a leer en el espectrofotómetro a 405nm de longitud de onda a los 45 minutos y se registró los resultados.

Los resultados son considerados positivos con base a las densidades ópticas establecidas en el laboratorio de Virología de la Universidad Nacional (>0.300).

### **CÓLERA PORCINO O PESTE PORCINA CLÁSICA.**

Las muestras fueron remitidas al Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios del M.A.G. Se utilizó la técnica de ELISA y las muestras fueron procesadas bajo el número de protocolo 33-99 de ese laboratorio.

Otro grupo de sueros se evaluaron con la técnica de Inmunoperoxidasa o Cell-ELISA en el Laboratorio de Virología de la siguiente manera.

Se utilizó placas de microtítulo (NUNC® Brand Products) que contenían células PK-15 infectadas con el Virus de Cólera Porcino cepa de referencia **Ames** 010PDV 9201, y fijadas con PBS-Acetona.

Los sueros se analizaron a una dilución de 1 : 2, en NaCl 0.15 M con 1% Tween 80 e incubación a 37C durante una hora. Posteriormente, se lavó las placas con PBS-Tween y se agregó el proteína G-Peroxidasa diluido 1:2000 en NaCl-Tween 80. Se incubó una hora a 37C y luego se lavó como descrito anteriormente. Por último, se agregó el sustrato insoluble **AEC**, se incubó 15 minutos a temperatura ambiente, se lavó con agua destilada y se leyó en el microscopio invertido (Olympus BH2). La presencia de color café rojizo en el citoplasma de las células infectadas, es indicativo de la presencia de anticuerpos contra el pestivirus del Cólera Porcino.

#### **Gastroenteritis Transmisible “TGE”**

Para hacer la detección de anticuerpos del Coronavirus Porcino, se utilizó una prueba comercial de ELISA bloqueante, de la casa **SVANOVA (SVANOVIR®)**, la cual puede diferenciar entre los anticuerpos de la cepa respiratoria y la cepa entérica.

1. Todos los reactivos son llevados a temperatura ambiente antes de ser usados
2. La placa que contiene antígeno de TGEV, es lavada tres veces con solución de PBS Tween, vaciando todo el líquido remanente.
3. Se adiciona 90µl de buffer PBS Tween en toda la placa.
4. Se coloca 100 µl de suero control positivo y 100 µl de suero control negativo en los pocillos asignados para cada suero.
5. Se agrega 50 µl del buffer PBS Tween en todas los pocillos a usar, más 50 µl de cada suero sin diluir que se desea evaluar, las muestras se trabajan por duplicado.
6. Se procede a incubar la placa por 2 horas a 37°C.
7. Pasado este tiempo se procede a lavar la placa con PBS Tween tres veces como se explicó en el paso 2.
8. Se adiciona 100 µl de la solución anti-TGE, en cada uno de los pocillos y se agrega 100 µl de la solución de antiTGE/PRCV a la mitad restante de los

- pocillos de la placa (se trabajó por duplicado), se incuba por 30 minutos a temperatura ambiente.
9. Seguidamente se procede a lavar con buffer de PBS Tween como en el paso 2. Se agrega 100 µl solución conjugado HRP en cada pocillo y se deja incubar por 30 minutos a temperatura ambiente.
  10. Se vuelve a lavar la placa con buffer PBS tween como en el paso 2, y se adiciona 100 µl de solución substrato en cada pocillo, se incuba por 10 minutos a temperatura ambiente.
  11. Pasado este tiempo la reacción se detiene con una solución “stop” de ácido sulfúrico, agregando 50 µl en cada pocillo.
  12. Se procede a hacer la lectura en el fotometro a 450nm de longitud de onda, se registran los resultados y se procede a hacer los cálculos.

Los sueros cuya densidad óptica es mayor a la de los sueros negativos para anti-TGE y anti-TGE/PRCV son considerados negativos, mientras que aquellos cuyos valores son inferiores se consideran positivos.

**Cuadro 5: Interpretación de Resultados para Diagnóstico de TGE**

| <b>Anti-TGEV</b> | <b>Anti-TGE/PRCV</b> | <b>Resultados</b>             |
|------------------|----------------------|-------------------------------|
| +                | -                    | <b>Postivo a TGE .</b>        |
| +                | +                    | <b>Positivo a TGE/PRCV</b>    |
| -                | -                    | <b>Negativo a TGE y PRCV.</b> |

### **BRUCELOSIS (*Brucella suis*).**

Para la detección de anticuerpos contra esta bacteria en los sueros de los cerdos se procedió a realizar la prueba “Rosa de Bengala” que consiste en una seroaglutinación con antígeno en placa.

Se procede a colocar una gota de antígeno de *Brucella suis* en una placa de vidrio, seguidamente se procede a colocar 50µl de cada suero de cerdo a evaluar en la misma placa, se procede a agitar para homogeneizar, pasados unos 5 minutos se procede a leer la

placa. Los casos positivos darán la formación de grumos, en los casos donde la precipitación no sea muy clara se vuelve a hacer la prueba, pero esta vez con diluciones.

#### **LEPTOSPIROSIS (*Leptospira sp.*).**

Las muestras fueron evaluadas en el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios del MAG. Se utilizó la técnica ELISA y las muestras fueron procesadas bajo el protocolo número 4241-99 de ese laboratorio. Los resultados se basan en los parámetros establecidos por el MAG.

#### **ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICOS.**

Los órganos, que durante las necropsias de campo, presentaron alguna alteración macroscópica, se conservaron en formalina al 10% y luego se embebieron en parafina, se tiñeron con Hematoxilina-Eosina y fueron analizados por el patólogo Dr. Alexis Berrocal.

#### **ANÁLISIS DE PARASITOLOGÍA.**

Se procedió a realizar el análisis, en campo, de parásitos externos y, a nivel interno, se realizó disección del tracto gastrointestinal y se buscó parásitos adultos. Se hizo lo mismo en las diferentes vísceras, en especial a nivel de tráquea, pulmones, hígado y riñones. Para el cestodo *Taenia solium* se buscó los quistes en masas musculares altamente oxigenadas como son los maseteros, la lengua, el diafragma y el corazón. Los parásitos adultos encontrados en los diferentes órganos fueron colectados y fijados en AFA (alcohol-formol-glicerina). Esta solución fue preparada previamente por el Laboratorio de Parasitología. Los especímenes se enviaron para su identificación, por medio de estereoscopía, al Laboratorio de Parasitología, para luego ser donados a la Colección de Parasitología de la Universidad Nacional.

**EXAMEN DE CONCEPTOS.**

A las hembras gestantes les fueron extraídos los conceptos, examinados y medidos de craneal a caudal, siguiendo el procedimiento descrito por Barlow (1999), para luego, por medio de la siguiente fórmula, estimar el tiempo de gestación aproximado.

Edad de Gestación aproximada (**días**) =  $21 + (3 \times \text{longitud cráneo/caudal})$ .

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Se realizó una estadística descriptiva (medidas de frecuencia relativas y absolutas).

## RESULTADOS

### Área de Estudio

El área de estudio se definió con base a las características del terreno, al igual que estas áreas fueran las más representativas para realizar la toma de las muestras como se ve en la figura 1, donde se observa una distribución de las áreas usadas para la recopilación de las muestras.

### Muestra

Se realizaron 63 muestras de cerdos de ello solo 6 no fueron necropsiados, el resto fueron eutanaciados en el lugar de captura, se utilizó un disparo dado por el guarda parque asignado para esta casería. Se obtuvieron muestras de sangre, y de tejido que presentó alguna alteración macroscópica entre ellos bazo, hígado, pulmones, riñones, piel, ovarios, adrenal e intestinos y fueron conservados en formalina y almacenados.

### Trabajo de Campo

Al realizar el muestreo se presentaron una serie de inconveniente como fueron lluvias constantes, terrenos escabrosos, limitaciones en la tecnología, al igual que de infraestructura adecuada. Se realizaron tres muestreos en diferentes épocas del año y en años diferentes entre enero de 1998 y enero del 1999 y junio de 1999. Los lugares de captura se determinaron con la ayuda del personal de la isla que conocía las diferentes áreas, las más accesibles como se aprecia en la figura 1.

Las edades de los animales variaron desde 2 meses hasta animales mayores de 20 meses. Teniendo un 32% (22 de 63) de animales entre 2-8 meses, un 22% (14 de 63) entre los 9-12 meses, 9,5% (6 de 63) entre los 13-18 meses, un 19% (12 de 63) entre los 19-20 meses y finalmente un 14,2 % (9 de 63) animales mayores de 20 meses. La distribución de sexos fue de 49% (31 de 63) de hembras y un 51% (32 de 63) de machos. De estos solo 5 (16,1%) de las hembras presentaron algún grado de gestación, y solo 3 (9,7%) hembras presentaron estados de lactación. Las hembras que estaban gestantes presentaron camadas desde los 3 fetos hasta 7 fetos que variaron en las edades de gestación y de sexos, como se aprecia en el cuadro número 9.

Los tamaños para los cerdos evaluados variaron entre los animales que tenían edades entre 12 a 20 meses y fueron de 68 cm hasta los 110 cm de diámetro y de los



animales más jóvenes entre edades de los 2 meses hasta los 11 meses, de 43 cm hasta 99 cm de diámetro.

Los resultados del análisis de contenido gástrico nos dicen que estos animales se alimentan principalmente de materia vegetal ( forrajes y frutos) seguidamente de lombrices y finalmente de restos de animales que encontraran, como ratas o aves de manera incidental como se observa en el cuadro 6

De los animales que presentaron alteraciones de tipo macroscópicas al nivel de diferentes órganos internos. De estos un 91,2% (52 de 57 ) de los animales presentaron la misma alteración hepática a nivel macroscópico, y en menor grado en otro tejidos tales como riñón, pulmones, bazo como se puede apreciar en cuadro 6.

De igual manea los animales que presentaron parasitosis por *Stephanurus dentatus* a nivel perirenal representando el 78,9% (45 de 57) de los animales y las edades para estos animales también fue variadas como se observa en el cuadro número 6, sin evidenciarse presencia de otro parásitos.

### Hallazgos de la Necropsia en Campo.

A la mayoría de los animales se les realizó una necropsia en la cual se registraron los datos dados en la cuadro 6, siguiendo el protocolo explicado anteriormente:

Cuadro 6: Hallazgo de Necropsia del Cerdo Feral de la Isla del Coco.

| # de muestra | Sexo | Estado reproductivo | Edad aprox. | Alteraciones          | Longitud | Contenido estomacal | Lugar de Caza |
|--------------|------|---------------------|-------------|-----------------------|----------|---------------------|---------------|
| 1            | H    | Impúber             | 2-3 meses   | N.D.                  | ND       | 100 % V.            | Chatham       |
| 2            | M    |                     | 18-20 meses | Hígado Cirrótico      | 105cm    | 50% V; 50%L         | Chatham       |
| 3            | H    | Gestante(6 fetos)   | >20 meses   | H.C.; RP; P en quiste | 103cm    | 10% V, 90%L         | Atrevido      |
| 4            | M    |                     | >20 meses   | HC;RP.                | 104cm    | 90% V; 10%L         | Atrevido      |
| 5            | M    |                     | >20 meses   | HC;RP. Bazo           | 103cm    | 100% V              | Atrevido      |
| 6            | M    |                     | 18-20 meses | HC, Criptorquidio     | 105cm    | 100% V              | Waffer        |
| 7            | M    |                     | 8-12 meses  | HC;RP                 | 95cm     | 95% V; 5% C         | Atrevido      |
| 8            | H    | Ciclando            | 18-20 meses | HC; RP                | 103cm    | 100% V              | Atrevido      |
| 9            | H    | Gestante(5fetos)    | >20 meses   | HC;Bazo grande,RP .   | 103cm    | 100% V              | Atrevido      |
| 10           | M    |                     | >20 meses   | HC;Bazo grande;RP     | 107cm    | 100% V              | Atrevido      |
| 11           | M    |                     | 18-20 meses | HC;RP                 | 109cm    | 90% V; 10% C        | Atrevido      |
| 12           | H    | Ciclando            | 18-20 meses | HC;RP                 | 101cm    | Vacío               | Atrevido      |
| 13           | M    |                     | 8-12 meses  | HC;RP;Bazo grande     | 95cm     | 95% V; 5% L         | Atrevido      |
| 14           | H    | Lactación( 2 tetas) | 18-20 meses | HC;                   | 102cm    | 15% V, 85% C        | Río sucio     |
| 15           | H    | Acíclica            | 18-20 meses | HC;RP;Pulmón quiste   | 103cm    | 90% V; 10% C        | Río sucio     |
| 16           | H    | Ciclando            | 8-12 meses  | HC;RP;Piel roja       | 93cm     | 100% V              | Rfo sucio     |

Cuadro 6: Hallazgo de Necropsia del Cerdo Feral de la Isla del Coco (cont).

|    |   |                      |             |                                 |       |              |            |
|----|---|----------------------|-------------|---------------------------------|-------|--------------|------------|
| 17 | M |                      | 8-12meses   | HC;RP;                          | 68cm  | 80% V;20%L   | Llanos     |
| 18 | H | Ciclando             | 8-12 meses  | HC;RP;                          | 81cm  | 25% V;75% C. | Llanos     |
| 19 | H | Acíclica(pequeños)   | 8-12 meses  | HC;RP;Bazo lesion               | 68cm  | 80% V;20%L   | Waffer     |
| 20 | M |                      | 8-12 meses  | HC;RP.                          | 90cm  | 20% V, 80%L  | Waffer     |
| 21 | H | Impúber              | 2-3 meses   | N.D.                            | 52cm  | 90% V;10%L   | Waffer     |
| 22 | H | Gestante (3fetos)    | >20 meses   | HC;RP                           | 110cm | 100% V       | Llanos     |
| 23 | H | Lactación( 1 teta)   | 18-20 meses | HC;RP                           | 103cm | 90% V;10%L   | Llanos     |
| 24 | H | Impúber              | 2 meses     | HC;RP                           | 48cm  | 50% V;50%L   | Llanos     |
| 25 | H | Ciclando             | 8-12 meses  | HC;RP;Bazo lesion               | 97cm  | 70% V, 30%L  | Llanos     |
| 26 | M |                      | 8-12 meses  | HC;RP                           | 99cm  | 98% V, 2%L   | Río sucio  |
| 27 | H | Impúber              | 2 meses     | ND                              | 45cm  | ND           | Atrevido   |
| 28 | M |                      | 3 meses     | HC;Criptorquidio bilateral      | 52cm  | 80% V, 20%L  | Chatham    |
| 29 | M |                      | 2meses      | HC.                             | 43cm  | 95% V, 5%L   | Atrevido   |
| 30 | H | Prepúber             | 8 meses     | Irrón infarto;HC                | 75cm  | 100% V       | Chatham    |
| 31 | M |                      | 2 meses     | ND                              | 50cm  | N.D.         | Waffer     |
| 32 | M |                      | 3 meses     | ND                              | 55cm  | N.D.         | Waffer     |
| 33 | M |                      | 3 meses     | ND                              | 60cm  | N.D.         | Waffer     |
| 34 | M |                      | 4 meses     | ND                              | 62cm  | N.D.         | Waffer     |
| 35 | M |                      | 4 meses     | ND                              | 62cm  | N.D.         | Waffer     |
| 36 | M |                      | 3 meses     | ND                              | 55cm  | N.D.         | Waffer     |
| 37 | H | Ciclando             | 8-12 meses  | HC;                             | 94cm  | 75% V, 25% C | Chatham    |
| 38 | M |                      | >20meses    | HC;RP;Piel lesión               | 100cm | 95% V, 5%L   | Atrevido   |
| 39 | H | Ciclando             | >20meses    | HC;RP;Bazo grande,C             | 108cm | 70% V, 30%L; | Río sucio  |
| 40 | H | Ciclando             | 18-20 meses | HC;RP;Mastitis                  | 98cm  | 95% V, 5%L   | Chatham    |
| 41 | H | Prepúber             | 9 meses     | HC; RP;                         | 80cm  | 100% V       | Llanos     |
| 42 | M |                      | 5 meses     | HC;RP                           | 66cm  | 95% V, 5%L   | Llanos     |
| 43 | M |                      | 5 meses     | HC;RP                           | 69cm  | 80% V, 20%L  | Llanos     |
| 44 | M |                      | 5meses      | HC,RP                           | 70cm  | 70% V 30%L   | Río genio  |
| 45 | H | Ciclando             | 8-12 meses  | HC;RP                           | 90cm  | 90% V;10%L   | Río genio  |
| 47 | M |                      | >20 meses   | HC;RP y absceso, baja condición | 100cm | 95% V 5%L    | Waffer     |
| 48 | H | Prepúber             | 8 meses     | HC;RP e infarto                 | 73cm  | 30% V, 70%L  | Waffer     |
| 49 | H | Impúber              | 5 meses     | HC;RP e infarto                 | 65cm  | 70% V, 30%L; | Waffer     |
| 50 | M |                      | 6-7 meses   | HC;RP                           | 77cm  | 100% V       | Río Genio  |
| 51 | M |                      | 3 meses     | HC;RP                           | 57cm  | 90% V;10%L   | Waffer     |
| 52 | M |                      | 8-12meses   | HC;RP                           | 90cm  | 100% V       | Río genio  |
| 53 | M |                      | 18-20 meses | HC;RP; pálido                   | 98cm  | 70% V, 30%L; | Río genio  |
| 54 | H | Ciclando             | 6-9 meses   | HC;RP y R.Iz + pequeño          | 75cm  | 100% V       | R. Chatham |
| 55 | H | Impúber              | 3 meses     | HC;RP                           | 60cm  | 80% V, 20%L; | R.Chatham  |
| 56 | H | Impúber              | 4-5 meses   | HC;PR                           | 70cm  | 100% V       | Sendero    |
| 57 | H | Ciclando             | 12-18 meses | HC;RP                           | 87cm  | 90% V;10%L   | Chatham    |
| 58 | H | Gestante(5 fetos)    | 12-18 meses | HC;RP; Bazo grande              | ND    | 100% V       | Llanos     |
| 59 | H | Gestante(7 fetos)    | 12-18 meses | HC;RP                           | ND    | 90% V;10%L   | Llanos     |
| 60 | M |                      | 18-20 meses | HC;RP                           | ND    | 100% V       | Llanos     |
| 61 | M |                      | 18-20 meses | HC.                             | ND    | 100% V       | Weston     |
| 62 | M |                      | 12-18 meses | HC, RP                          | 90cm  | 90% V; 10C   | Ullua      |
| 63 | H | Lactación(1 cerdito) | 12-18 meses | HC;RP                           | 90cm  | 100% V       | Llanos     |

H: hembra, M: macho, ND: no determinado, HC: hígado cirrótico, RP: riñón parasitado, P: parásito. V : Vegetal, L: Lombriz,. C: Carne (ave o rata).

## Trabajo de Laboratorio

### Serología

Para el análisis se hizo uso de diferentes técnicas, y a partir de ellas se obtuvo el siguiente resultado que se puede observar en el cuadro 7

Cuadro 7: Pruebas aplicadas a las muestras de suero de cerdo feral y sus resultados.

| Enfermedad            | # Sueros | Método Aplicado                        | Tipo de Agente             | Positivos | Laboratorio        |
|-----------------------|----------|--|----------------------------|-----------|--------------------|
| Parvovirus            | 58       | I.H.A. <sup>1</sup>                    | Parvovirus porcino         | 54        | Virología UNA*     |
|                       | 37       | ELISA <sup>2</sup>                     | Parvovirus porcino         | 4         | Virología UNA*     |
| SRRP                  | 33       | ELISA <sup>2</sup>                     | Arterivirus                | 0         | Virología UNA      |
| Aujeszky              | 46       | ELISA <sup>2</sup>                     | Herpesvirus Porcino tipo 1 | 0         | Virología UNA      |
| LPMV                  | 36       | ELISA <sup>2</sup>                     | Paramixovirus              | 0         | Virología UNA      |
| Estomatitis Vesicular | 56       | ELISA <sup>2</sup>                     | VEV-Indiana                | 0         | Virología UNA      |
|                       |          |  | VEV-New Jersey             | 0         | Virología UNA      |
| Rotavirus             | 45       | ELISA <sup>2</sup> e I.F. <sup>3</sup> | Rotavirus porcino          | 0         | Virología UNA      |
| Cólera Porcino        | 25       | ELISA <sup>2</sup>                     | Pestivirus                 | 0         | LANASEVE**         |
|                       | 19       | I.F. <sup>3</sup>                      |                            | 0         | Virología UNA      |
| GET                   | 33       | ELISA <sup>2</sup>                     | Coronavirus suino          | 0         | Virología UNA      |
| Brucelosis            | 60       | A.P. <sup>4</sup>                      | <i>Brucella suis</i>       | 0         | Inmunología UNA*** |
| Leptospira            | 25       | ELISA <sup>2</sup>                     | <i>Leptospira sp</i>       | 0         | LANASEVE           |

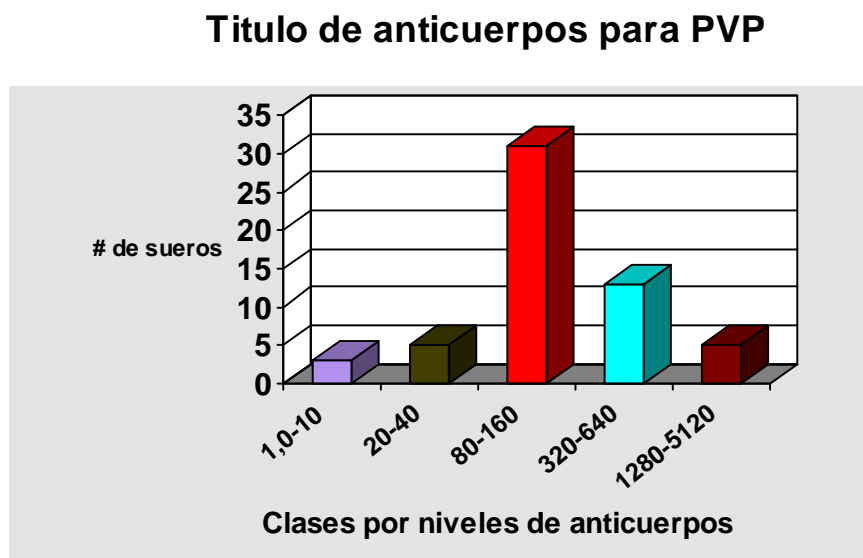
1. I.H.A. Inhibición de la Hemoaglutinación. 2. Ensayo de Inmunoabsorción enzimática 3. Inmuflorescencia 4. Aglutinación en placa \*: Laboratorio Virología U.N.A. \*\*: Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios del M.A.G. \*\*\*: Inmunología U.N.A. **Tipo de Agente:** PVP: Parvovirus Porcino. HVP- 1: Herpesvirus Porcino Tipo 1. VEV: Virus de Estomatitis Vesicular. VRP: Rotavirus Porcino. SRRP : Síndrome Respiratorio Reproductivo Porcino. CVP: Coronavirus Porino. LPMV: La Piedad de Michoacán. GET: Gastroenteritis transmisible.

### Virología.

De los resultados obtenidos solamente el Parvovirus dio valores positivos en un 93% (54 de 58), indicando que estos animales sí han estado en contacto con este virus.

La presencia de anticuerpos iguales o mayores a 1:20 se consideró positivo a este virus, como se ve en el gráfico 1 de distribución de frecuencias.

Gráfico 1



La prueba de ELISA de P.V.P. dio 4 valores positivos, pues para esta prueba solamente se pudieron evaluar 37 de los sueros, pues los volúmenes necesarios para realizar la prueba no en todos los sueros fue el suficiente, sin embargo, estos cuadro sueros con valores positivos coinciden con los sueros de títulos altos en la prueba de inhibición de la hemoaglutinación para este virus

De los demás virus como el SRRP, Aujeszky, La Piedad de Michoacán a los cuales se les realizaron pruebas de ELISA los resultados fueron valores negativos, lo que sugiere que los cerdos ferales no han estado en contacto con estos otros virus. Recordando que no el total de los sueros fueron evaluados por haber una limitante en el volumen necesario para realizar las pruebas

Para el Virus de Estomatitis Vesicular, se evaluaron 56 sueros para las variedades de New Jersey e Indiana, los valores de esta prueba fueron inferiores a el valor de 17%. Con esté ultimo criterio, se estableció que los cerdos ferales con valores inferiores a este valor, se les consideró negativos al virus de estomatitis vesicular. Considerando a estos animales como negativos a este virus.

Para los virus de Rotavirus, Cólera Porcino y Gastroenteritis Transmisible (se evaluaron las dos variedades la entérica y la respiratoria) por medio de la técnica de ELISA para cada uno de estos virus. Los resultados fueron igualmente considerados negativos siguiendo las especificaciones del fabricante, para estos virus no se evaluaron todas las muestras, la razón para ello fue el bajo volumen disponible de suero en todas las muestras. Además 19 muestras de sueros se les efectuó la prueba de inmunofluorescencia para Cólera Porcino, e igualmente este lote de sueros se les considero negativos para este virus

### **Bacteriología.**

El análisis de Brucelosis en las muestras registró valores negativos en un 100%, igualmente para la Leptospirosis, aunque para este caso no se evaluaron todas las muestras requeridas. Sin embargo, sus resultados sugieren en gran medida que los animales no han estado en contacto con estas bacterias.

### **Hallazgos de Histopatología.**

Los hallazgos fueron hechos en el laboratorio de Patología de la U.N.A. A este laboratorio se remitieron 31 muestras que tenían algún tipo de alteración macroscópica como se ve en el cuadro 8, de éstas 26 (83.8%) de los tejidos de hígado presentaron algún tipo de alteración microscópica, de las muestras de riñón siete, no presentaron ningún tipo de cambio microscópico, pero el resto de las 17 muestras sí las presentaron, entre ellas daños tubulares similares a los descritos por oxalatos de calcio y tejido de inflamación en algún grado (54.8%). En tres muestras de bazo (9,6%), se presentó hiperplasia linfóide a nivel de pulpa blanca y en un caso hemosiderina en el parenquima. En dos muestras de pulmón (6,4%) se encontraron reacciones inflamatorias con gran eosinofilia, neumonía catarral y una presentó neumonía parasitaria. Los demás tejidos no presentaron alteraciones. Más detalles son especificados en el cuadro 8.

Cuadro 8: **Hallazgos Histopatológicos Cerdo feral Isla del Coco.**

| #@ | Sexo | Hígado   | Riñón  | Otros   |
|----|------|--|--|---|
| 3  | H    |  | Necrosis focal probable parásito, hay pigmento amarillento   | Ovarios sin cambios.                                    |
| 5  | H    | Hepatitis crónica portal con formación de puentes, hepatitis multifocal granulomatosa, quistes parasitarios.                             |  |   |
| 7  | M    | Hepatitis crónicas gránulomatosa probablemente de origen parasitario, con gran hiperplasia   |  |   |
| 9  | H    |  |  | Bazo: hiperplasia pulpa blanca                          |
| 11 | M    | Hepatitis crónicas granulomatosa focal, con gran componente portal con fibrosis  |  | Piel: sin cambios aparentes                             |
| 24 | H    | Casi no hay parenquima, sólo fibrosis con varios granulomas-eosinofílicos parasitarios   | Respuesta intersticial modificada con predominio de eosinofilos. No presencia de oxalatos.                                 |   |
| 25 | H    | Varios gránulos necróticos, con mucha reacción inflam. Mixta (monocitos y eosinofilia) con fibrosis, también fibrosis portal con puentes | Cristaluria portal (oxalatos de calcio), hay granuloma tubular con cristales   | Bazo: Hiperplasia Linfoide                              |
| 26 | M    | Gran fibrosis portal con compromiso de parenquima, Colangio hepatitis más granulomas parasitarios  | Gran cristaluria tubular con oxalatos de calcio con hiperplasia, granulomas tubulares, y un foco de granuloma eosinofílico |   |
| 28 | M    | Normal, con un foco de necrosis y con leve reacción parcial eosinofílica.  |  | Pulmón: reacción septal, neumonía catarral, eosinofilia |
| 29 | M    | Leve a moderada colangio hepatitis con eosinofilos   |  |   |
| 30 | H    | Evidente colangio hepatitis crónica con formación de puentes   | No cambios   |   |
| 37 | H    | Colangio Hepatitis, mixta (hay eosinofilos) Granuloma parasitario con fibrosis.  |  | Páncreas no cambios                                     |
| 38 | M    | Gran granuloma parasitario( larva), fibrosis   | Fibrosis capsular, focos de nefritis intersticial, túbulos y cristales de oxalatos.  | Adrenal: Gran cantidad tej.fibroso, cápsula adherida.   |
| 39 | H    |  | Marcados túbulos con oxalatos  |   |
| 40 | H    |  | Marcados túbulos con oxalatos  |   |
| 41 | H    | Severa fibrosis, granulomas con mucha inflamación crónica.   | No hay cambios   |   |
| 42 | M    | Marcada fibrosis con puentes, con marcada eosinofilia.   | Marcada reacción intersticial, más muchos eosinofilos.   |   |
| 43 | M    | Leve inflamación portal, con mínimo compromiso del parenquima  | Inflamación focal intersticial   |   |
| 44 | M    | Severa fibrosis, con inflamación mixta ( hay eosinofilos)  | Moderados túbulos con oxalatos   |   |
| 45 | H    | Leve fibrosis portal con puentes, más inflamación crónica  | Marcada inflamación intersticial, con muchos granulomas, más eosinofilia   |   |
| 46 | H    | Varios granulomas subcapsulares sin reacción del parenquima  | Túbulos con oxalatos leves. Marcada inflamación eosinofílica   | Bazo; Hiperplasia folicular                             |
| 47 | M    | Múltiples granulomas con reacción eosinofílica y fibrosis  | Marcados túbulos con oxalatos  | Intestino: Gran celularidad eosinofílica                |
| 48 | H    | Leve fibrosis con puentes  | Leve inflamación intersticial.   |   |
| 49 | H    | Leve fibrosis con puentes  | No hay cambios   |   |
| 51 | M    | Fibrosis leve con eosinofilia, más monocélulas, y un granuloma   | No hay cambios   |   |

**Cuadro 8: Hallazgos Histopatológicos Cerdo feral Isla del Coco (cont).**

|    |   |  |  |                   |
|----|---|--|--|-------------------|
| 52 | M |  | Leve túbulos con oxalatos                                    | Bazo: sin cambios |
| 53 | M | Aumento de tejido conectivo portal   | Moderado túbulos con oxalatos, con reacción a cuerpo extraño | Bazo: sin cambios |
| 54 | H | Poca hemosiderosis portal, fibrosis en la capsula de Glisson   | Oxalatos leve  | Bazo: sin cambios |
| 55 | H | Múltiples granulomas eosinofílicos con gran fibrosis subcapsular, y presencia de una estructura parecida a un parásito | No hay cambios   |                   |
| 56 | H | Leve fibrosis portal   | No hay cambios   |                   |
| 57 | H | Granuloma portal, eosinofílico   | No hay cambios   |                   |

Los espacios en blanco son indicativos que no hubo alteración macroscópicas.

### Parásitos.

De los análisis de parasitología tanto externos como internos practicados en los 57 animales al realizar la necropsia en campo y cinco más no eutanasiados, ninguno presentó ectoparásitos ni nemátodos gastrointestinales. Cuarenta y cinco cerdos presentaron parásitos renales identificados como *Stephanurus dentatus* a nivel de grasa perirenal, uréteres, y algunos con el parásito dentro del parénquima renal formando abscesos, lo que equivale a un 78.9% , como se observo en el cuadro 6.

### Conceptos

Todos los conceptos encontrados en hembras gestantes fueron medidos y se les estimó la edad aproximada de gestación, como se ve en el siguiente cuadro al igual que el sexo cuando fue posible y su longitud y número de fetos.

**Cuadro 9: Estimación de Edad de Gestación en Conceptos Porcinos**

| # de cerda | # de fetos | sexo                | Longitud craneal/caudal | Edad aproximada |
|------------|------------|---------------------|-------------------------|-----------------|
| 3          | 6          | 6 hembras           | 11cm                    | 54 días         |
| 9          | 5          | no determinado      | 2,5cm                   | 30 días         |
| 22         | 3          | 3 hembras           | 22cm                    | 90 días         |
| 58         | 5          | 3 hembras ,2 machos | 14cm                    | 63 días         |
| 59         | 7          | 3 hembras, 2 machos | 18cm                    | 75 días         |

Ninguno presento alteraciones patológicas o que indicara infecciones vírales.

## **Discusión.**

Siendo la Isla del Coco un de los pocos sistemas insulares con una riqueza ecológica poco alterado por la presencia del hombre, es evidentemente importante toma en consideración de manera prioritaria el tema de la presencia de especies exóticas, en especial los cerdos ferales, pues son ellos lo causantes de la mayoría de los cambios que sean gestado en la isla como lo demostró Sierra en el 1998, en su estudio del impacto que produce esta especie en la isla.

Al ser reconocido el sistema insular de la Isla del Coco como patrimonio de la humanidad hace urgente, mas que nunca, la necesidad de resolver los problemas que esta especie exótica esta generando sobre la isla, al igual que la posible influencia de las otras exóticas que habitan en esta isla.

Siguiendo el modelo matemático recomendado para esta investigación, se logro obtener un número de animales necesarios para completar la muestra, como se detalla en el cuadro 6, además las áreas fueron determinadas para los lugares de captura (figura 1 )por la facilidad de trabajo, conocimiento de los territorios por parte de los cazadores y representatividad de la distribución de la población de cerdos ferales. Las condiciones del territorio a pesar de ser las mejores áreas estimadas, siempre limitaron el trabajo en el campo, y se sumó las malas condiciones del tiempo con lluvias constantes, cambio de áreas de alimentación de los animales y época del año en que se realizó la toma de las muestras.

Como se observa en el cuadro 6, de los hallazgos de necropsia, estos animales presentaron una serie de daños al nivel de sus vísceras, estos se relaciona directamente con la presencia en su dieta, de lombrices vectores de parásitos que viajan vía hemática y forrajes (presuntamente alta en contenido de oxalatos de calcio) que de alguna manera se relaciona con estos hallazgos en campo. Es claro que los animales mayores a los 12 meses, estos daños viscerales eran más pronunciados, pero de igual manera los animales jóvenes, entre 2 a 5 meses, ya presentaban estas alteraciones en tejido hepático y la presencia de parásitos en grasa perirenal, como se observa en el cuadro 6 .

Por la alta resistencia al medio ambiente y por sus características de transmisión, se especula que los virus de la familia Parvoviridae pudieron haber llegado con los primeros grupos de cerdos traídos a la isla o que éstos se hayan infectado por la introducción del virus de manera mecánica. Las condiciones imperantes en la isla también pudieron haber



ayudado a diseminar el virus. Lo que no es claro es si este virus es una cepa nueva o antigua, pues para esto habría que secuenciar filogenéticamente el virus, tarea fuera de posibilidad en esta investigación, además, el virus no se pudo aislar de las muestras de suero.

Se sabe que este virus es de distribución mundial, y por esta razón la posibilidad de que el virus haya llegado a la isla no es tan remota.

Para los virus de La Piedad de Michoacán (LPMV) y Síndrome Respiratorio Reproductivo Porcino (SRRP) que son virus de reciente descubrimiento, no hay investigaciones registradas en poblaciones de cerdos ferales. Sin embargo, los valores negativos sugieren que estos virus no han estado presentes en las poblaciones de cerdos ferales de Isla de Coco.

La enfermedad de Aujeszky fue estudiada en sistemas isleños y áreas continentales de los Estados Unidos por Pirtle (1990) y Van der Leek (1993), quienes concluyen que los cerdos de esos lugares son reservorios de la enfermedad de Aujeszky. Los resultados negativos del análisis sugieren que este virus no está presente en los cerdos, eliminando a esta especie como actual reservorio de la enfermedad. En Costa Rica la enfermedad es considerada exótica.

Los resultados obtenidos de análisis de la estomatitis vesicular son altamente sugestivos que la enfermedad no está presente en la población de cerdo feral de la isla del Coco, aunque las investigaciones hechas por Fletchers(1985) y Stallknecht (1986) reportan valores de prevalencia entre el 10 y el 100% de las zonas evaluadas de los Estados Unidos y en especial en la Isla Ossabaw en Georgia, donde las poblaciones de cerdos ferales mostraron alto títulos. Esto es contrario a lo observado en la Isla del Coco. Las inadecuadas condiciones existentes en el bosque de la isla del Coco para este virus (aunque éste es resistente al medio ambiente, así como al material orgánico) y la posible falta de huéspedes intermediarios (artrópodos) de la enfermedad, explicarían, en parte, la ausencia de la enfermedad en esta población insular.

El Rotavirus, a pesar de ser un virus muy resistente al medio ambiente, no se encuentra presente en la población porcina de la Isla del Coco y, además, ésta no actúa como una posible fuente de transmisión.

Por ser el cólera porcino una de las enfermedades que más problemas de salud animal y de carácter económico causó en el área continental de Costa Rica, era necesario evaluar la presencia de este virus en la isla del Coco. La ausencia del virus, de alguna manera es muy similar a los estudios que realizó Nettles (1988), en los cuales concluye que en las islas de Sta. Cruz y Sta. Rosa en California, el virus de cólera porcino no se mantiene en poblaciones de cerdos ferales dispersos y que a su vez los cerdos ferales no actúan como reservorio de esta enfermedad. Esto se aplica a lo que sucede en la isla, pues esta población de cerdos tiene un comportamiento solitario contrario a lo reportado en otras poblaciones de cerdos ferales de diferentes áreas. Hay que recordar que este virus no es muy estable en el medio ambiente, aunque puede encontrarse en productos cárnicos y embutidos de cerdo por algún tiempo (Fenner, 1992). Esto hace suponer que los cerdos ferales de la Isla del Coco son susceptibles a infectarse con productos cárnicos traídos de áreas donde el virus está presente y desechados por los barcos visitantes.

Los resultados demuestran que la presencia de anticuerpos contra el virus de gastroenteritis transmisible (variantes entéricas y respiratorias) es nula para esta población de cerdos. Lo que coincide con las investigaciones hechas por Woods (1990), en el sur de los Estados Unidos donde la ausencia de anticuerpos es indicativo que no es común en estas áreas. Las posibles razones de esta ausencia es la alta labilidad de los coronavirus al medio ambiente, en especial en la isla del Coco, donde estas condiciones son más extremas.

Al analizar los resultados de Brucelosis, se puede decir que esta población está libre de esta bacteria, pues los sueros evaluados indican que un 100% fueron negativos a anticuerpos de esta enfermedad. Algo distinto demuestran las investigaciones llevadas a cabo por Zygmunt (1982) y Van der Leek (1993), ellos establecieron la presencia de este agente en muchas poblaciones de cerdos ferales en los Estados Unidos, así como en Hawaii en donde incluso se detectó una cepa no clasificada, demostrando que estas poblaciones actúan como reservorios de la Brucelosis.

Los análisis de Leptospirosis efectuados a las muestras traídas de la Isla del Coco también arrojaron resultados negativos. Los estudios realizados por Everard (1983) demuestran que una gran variedad de mamíferos salvajes y ferales de las islas del Caribe son portadores y transmisores de la enfermedad. Se relaciona fuertemente a los roedores peridomésticos y silvestres así como a los animales domésticos asilvestrados.

Los hallazgos patológicos de tipo inflamatorio son indicativos de la presencia de grandes parasitosis erráticas por parte del nematodo renal del cerdo (Soulsby, 1987). La existencia de un 34 % de animales que presentan una patología tubular con formación de cristales semejantes a los descritos en oxalatos renal, es indicativa de altas cargas de calcio en la dieta, estos hallazgos se han reportado en bovinos, (comunicación personal, Berrocal, 10-1999)<sup>2</sup> por consumir forrajes ricos en oxalatos de calcio. En el caso de los cerdos del Coco podríamos pensar que de alguna manera están consumiendo algún tipo de forraje que contenga altos niveles de calcio, lo que lleva a la formación de estos precipitados en el parénquima renal, pues estos depósitos de oxalatos se dan con el tiempo, y esto coincide con que los animales más afectados fueran adultos ( más de 18 ó 20 meses).

En el estudio parasitológico solamente se encontró un nemátodo *Stephanurus dentatus*, presente en el 78.9% de los animales. Esto coincide con las investigaciones realizadas por Presswood (1979); Smith (1982); Pence (1988), y Eslami (1993), quienes encuentran gran parasitosis (*Stephanurus dentatus*) en los cerdos ferales de áreas insulares y continentales. La explicación que dan es que la condiciones ambientales son ideales para que el parásito cumpla su ciclo vital, sumado a la utilización de un huésped paraténico, en este caso la lombriz de tierra (*Eisenia foetida*), donde los estados larvarios pueden sobrevivir por semanas o incluso meses (Soulsby, 1987). Estas mismas condiciones son encontradas en la Isla del Coco donde no sólo los factores ambientales son favorables, sino que hay presencia de la *Eisenia foetida* la cual es parte importante de la dieta de los cerdos del Coco (cuadro 6), implicada como fuente alimenticia así como fuente infectante. Como se ve en la cuadro 6 un 100% de las muestras examinados presentó algún tipo de daño a nivel hepático, renal, pulmonar, de tipo inflamatorio junto al aislamiento de nemátodos en algunos de ellos, coincidiendo con lo reportado por Smith (1982). Por estos hallazgos podemos decir que el cerdo feral de la isla del Coco es un reservorio de este parásito.

Se puede explicar parcialmente la ausencia de muchos parásitos externos e internos por la pérdida de mecanismos de transmisión en su ciclo vital (llevándolos a una desaparición masiva como lo propone Pence, 1988 ), así como por la simple idea que los cerdos fundadores de esta colonia no estuvieran infestados de estos parásitos (debido a viajes muy largos en barco).

---

<sup>2</sup> Dr. Alexis Barrocal. Patólogo de la Escuela de Medicina Veterinaria Universidad Nacional

Al realizar los análisis de los conceptos (cuadro 9) se notó que ellos no presentaron alteraciones que sugirieran infecciones de origen viral o bacterial o cualquier otra anomalía de origen congénita, pues los fetos fueron normales en forma y tamaño. La distribución de sexos en los fetos fue evidentemente dominada por las hembras en este pequeño grupo, no siendo esto un indicativo de la predominancia, en las poblaciones de hembras como se observa en el cuadro 6, donde la relación de animales es 50% hembras y 50% machos.

## Conclusiones

- Los cerdos asilvestrados de la Isla del Coco han estado expuestos a los patógenos de Parvovirus porcino y al nematodo *Stephanurus dentatus*.
- Se puede pensar que es altamente sugestiva la ausencia de los siguientes agentes virales en la población porcina de la Isla del Coco: Estomatitis Vesicular, SRRP, Aujeszky, Cólera Porcino, Gastroenteritis Transmisibile, Rotavirus y La Piedad de Michoacán.
- La Brucelosis no está presente en esta población insular, lo mismo es sugerido para la Leptospirosis, debido a la negatividad en las muestras.
- Se determino que el consumir la carne de cerdo feral, es seguro pues no hay indicios de presencia de patógenos zoonóticos.
- Es necesaria una investigación más exhaustiva de enfermedades en las poblaciones de animales exóticos en la Isla del Coco.
- Se logro determinar que los cerdos ferales de la Isla del Coco no representan un peligro potencial en la transmisión de agentes patógenos exóticos a la producción porcina nacional continental.

## Limitantes

Como se nota en la tabla 7, solamente los sueros del Parvovirus Porcino y la *Brucella suis* completan el número necesario de muestras con valor estadístico fiable. La razón para esto se haya dado es la existencia de varios factores limitantes, entre los cuales el principal fue el volumen de suero obtenido en cada muestra, que no en todos los animales fue el suficiente. Estos volúmenes tan bajos fueron obtenidos en condiciones de campo, en las cuales predominaba la falta de tecnología que permitiera obtener el máximo de suero por animal evaluado, sumado a las malas condiciones climáticas imperantes en la isla, que limitaban aun más el trabajo de campo. Estos animales fueron muertos de un balazo y no siempre los lugares anatómicos para la toma de suero se encontraban en óptimas condiciones, haciendo inútiles las muestras tomadas.

## ANEXOS

**Figura 1:** Distribución de los puntos de Caza



## Bibliografía:

- Ahl, R. ; Pensaert, M.; Robertson, I. Terpstra, C.; Van der Sande, W.; Walker, K.; White, M. 1992. **Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) or Blue-eared Pig Disease**. Vet. Record 130(5): 87-89.
- Albina, E. 1997. **Epidemiology of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS): an overview**. Vet. Microbiol. 55(1-4): 309-316.
- Albina, E. 1997. **Porcine and Reproductive and Respiratory Syndrome: ten years or experience (1986-1996) with his undersirable viral infectation**. Vet. Record. 28(4): 305-352.
- Alfaro, A. 1898. **Informe sobre la fauna de la Isla**. Revista del Colegio Superior de Señoritas (4,5). 1935
- Alkinson, I. 1989. **Introduced animals and extinctions**. Western, D.; Pearl, M. eds. Conservation for the Twenty first Century. Oxford University Press, New York. pp 54-74.
- Ameida, G. 1991. **Control de Cerdos Salvajes en Isla Santiago**. Carta Informativa. Servicio Parques Nacionales Galápagos. Año 11, No 32.
- Baber, D; Bruce C. 1987. **Biology and control of feral pigs on isla Santiago, Galápagos, Ecuador**. Journal of Applied Ecology (24): 403-418.
- Barlow, A. 1999. **A guide to the Investigation of Porcine Abort/Stillbirth**. In Practice. Nov-Dic. 559-564.
- Bermúdez, J. 1996. **Estudio de la Prevalencia de Anticuerpos a: Gastroenteritis Transmisible, Cólera Porcina, Síndrome Reproductivo y Respiratorio Porcino, Aujeszky, en Cerdos de Costa Rica**. Tesis para optar por el título de Licenciado en Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. 106 p.
- Bolaños, R.; Watson, V. 1993. **Mapa Ecológico de Costa Rica**. Según el Sistema de Clasificación de Zonas de Vida del Mundo de L.R. Holdridge. Escala 1: 200.000. Centro Científico. San José, Costa Rica. 9pp.
- Bramwell, Dn. 1979. **Plants and Islands**. Academic Press, London 469 pp.
- Bratton P. 1974. **The effect of the European Wild Boar (*Sus scrofa*), on Gray Beech Forest in The Great Smokey Montains**. Ecology 56: 1356
- Calvopiña, J. 1991. **Los Chivos Cimarrones en Alcedo**. Carta Informativa. Servicio de Parque Nacional Galápagos. Año 11, No 32.



- Carlquist, S. 1974. **Island Biology**. Columbia University Press, New York. 660 pp.
- Carreón, N.; Fuentes, R. 1991. **Frecuencia de anticuerpos contra el Paramixovirus del Ojo azul en cerdos del Altiplano y Norte de México**. Vet. Mex. 22(2): 177-179.
- Castillo, P.; Batista R.; Vanco, D.; Malavassi, E.; Barquero, J. y Fernández, E. 1988. **Anomalously young volcanoes on hot spot traces : I. geology and petrology of Cocos Island**. *Geological Society of America Bulletin* 100 : 1400-1414.
- Chapuis, J.; L. Barnaud.; F. Biorét, Lebouvier, M.; Pascal, M. 1995. **L'éradication des espèces introduites, un préalable à la restauration des milieux insulaires**. Cas des îles françaises. *Natures-Sciences*, Hors-série.
- Chaves, S. 1995. **Arqueología**. Páginas 122-144 Plan General de Manejo Isla del Coco. 1995. Anexo 1. Sondeo Ecológico Rápido. FUNDEVI-PROAMBI-ICT-SPN. 203 pp.
- Christianson, W.; Soo Chio, C.; Collians J.; Molitor T.; Morrison R. and Soo-Jo H. 1992. **Pathogenesis of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Infection in Mid-gestation Sows and Fetuses**. *Can.J.Vet. Res.* 57, 262-268.
- Clark, R.; Jessup, D.; Hird, D.; Ruppner, R.; Meyer, E. 1983. **Serologic Survey of California Wild Hogs for Antibodies against Selected Zoonotic Disease Agents**. *JAVMA* 183(11): 1248-1251.
- Cobletz B., 1990. **The Nasty Necessity: Erradicating exotics**. *Conservation Biology* 4(2)
- Corn, J.; Lee, R.; Erickson G.; Murphy C. 1987. **Serologic Survey for Evidence of Exposure to Vesicular Stomatitis Virus, Brucellosis and Leptospirosis in Collared Peccaries from Arizona**. *Journal of Wildlife Diseases* 23 (4) : 551-557.
- Corn, J.; Swiderek, P.; Blackburn, B.; Erickson G.; Thiermann, A.; Nettles V. 1986. **Survey of Selected Diseases in wild Swine in Texas**. *JAVMA* 189(9): 1029-1032.
- Corn, L.; Mousing J.; Mortensen J.; Soerensen K.; Strandbygaard S.; Henriksen J. 1990. **Evidence of Long Distance airborne Transmission of Aujeszky's Disease Virus**. *Vet.Record* 127: 471-474.
- Crawley J.,1993. **The Population Biology in Invaders**. *Philosophical Transactions of Royal Society of London*. B 314:711-731.
- Diong, H. 1982. **Population Biology and Management of the feral pig (*Sus scrofa*) in Kipahulu Valley, Maui**. PhD. Tesis. University of Hawaii.

- Done, S.; Paton D. 1995. **Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome: Clinical disease, pathology and immunosuppression.** Vet. Record 136 32-35
- Eslami, A.; Farsad-Hamdi. 1992. **Helminth Parasites of Wild Boar, *Sus scrofa*, in Iran.** Journal of Wildlife Diseases 28 (2) : pp. 316-318
- Fenner, F.; Gibbs, P.; Murphy, F.; Rott, R.; Studdert, M.; White, D. 1993. **Veterinary Virology** . II ed. Academic Press, Inc. San Diego California. pp. 666.
- Foreyt, W. 1990. **Veterinary Parasitology Reference Manual.** Board of regents of Washington State University, USA. pp. 165.
- Forrester, D.; Porter, J.; Belden R.; Frankenberger, W. 1982. **Lungworms of Feral Swine in Florida.** JAVMA 181(11): 1278-1280.
- Getty, R.; 1982. **Anatomía de los Animales Domésticos.** Tomo II. 5ta edición. Salvat Editores, S. A. Barcelona, España. pp 1339-1566.
- Giffin, J. 1978. **Ecology of the Feral Pig on the Island of Hawaii.** Final Report. P-R Project W-15-3, Study No.II. Honolulu, Hawaii Department of Land and Natural Resources, Division of Fish and Game
- Guido, A. 1935. **Expedición a la Isla del Coco.** Diario de viaje. Revista del Colegio de Señoritas (4,5). 1935.
- Hanson, R.; Karstad, L. 1959. **Feral Swine in the Suotheastern United States.** Journal of Wildlife Management 23(1): 64-74.
- Hobbs R., Huennele. 1992. **Disturbance, Diversity and Invasion: Implications for Conservation.** Conservation Biology 6: 324-337.
- Humbert, J.; Henry, C. 1989. **Studies on the Prevalence and the Transmission of Lung and Stomach Nematodes of the Wild Boar(*Sus scrofa*) in France.** Journal of Wildlife Diseases 25 (3) : pp. 335-341.
- Jinesta, R. 1937. **La Isla del Coco.** Imprenta Falco Hnos. San José, Costa Rica.
- Joo, H.; Johnson, R., 1976. **Porcine Parvovirus: A Review.** Vet Bull. 46(9) : 653-657.
- King, C.M. 1984. **Immigrant Killers: introduced predators and the conservation of birds in New Zealand.** Oxford University Press, Aukland. 224 pp.
- Kotanen P., 1995. **Responses of Vegetation to a Changing Regime of Disturbance: Effects of Feral Pigs in a California Coastal Praire.** Ecography 18: 190-199.

- Martin,W; Meek, A; Preben, W .1987. **Veterinary Epidemiology Principales and Methods**. Iowa State University Press. Iowa, U.S.A. pp 343.
- Mehlhorn, H.; Duwel. D.; Raether, W. 1993. **Manual de Parasitología Veterinaria**, Editorial GRASS-IATROS, Bogotá, Colombia. pp 284.
- Montoya, J. 1990. **Plan de Manejo Parque Nacional Isla del Coco**. Sistema de Parques Nacionales(SIPAREMA), Servicio de Parques Nacionales (SNP), Ministerio de Recursos Naturales, Energía y Minas (MIRENEM). Documento de Trabajo. Manuscrito, sp.
- Mora, J.M.; Barrantes, G., 1995. **Fauna**. Páginas 61-73 en Plan de Manejo Isla del Coco. Anexo 1. Sondeo Ecológico Rápido. FUNDEVI-PROAMBI-ICT-SPN. 203 pp.
- Morgan, P. 1683. **Un Nueva Aventura en el Pacífico: de cómo y dónde escondí mis tesoros en la Isla del Coco**. Imprenta Dig and Find, London, U.K. pp 72.
- Nettles, V.; Corn, J.; Erickson, G.; Jessup D. 1989. **A Survey of Wild Swine in the United States for Evidence of Hog Cholera**. Journal of Wildlife Diseases 25 (1) : 61-65.
- Pence, D.; Waren, R.; Ford, R. 1988. **Visceral Helminth Communities of Insular Population of Feral Swine**. Journal of Wildlife Diseases. 24(1) : 105-110.
- Pittier, H. 1898. **Apuntamientos preliminares sobre la Isla del Coco, posesión costarricense en el Océano Pacífico**. Revista del Colegio Superior de Señoritas (4,5). 1935.
- Prestwood, A.; Kellogg, F.; Pursglove, S.; Hayes F. 1975. **Helminth Parasitisms among Intermingling Insular Populations Of White-Tailed Deer, Feral Cattle, And Feral Swine**. JAVMA 166(8): 787-789.
- Prittle E., Sacks J., Nettles V., Rollar E. 1989. **Prevalence and Transmission of Pseudorabies Virus in an Isolated Population of Feral Swine**. Journal of Wildlife Diseases. 25(4) : 605-607.
- Sartin, E.; Spano, J.; Hachcock, T. 1999. **A Practitioner's Guide to Necropsy**. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. 21(10) 954 - 960.
- Schofield, E.K. 1989. **Effects of Introduced Plants and Animals on Island Vegetation : Examples from the Galápagos Archipiélago**. Conservation Biology 3(3): 227-238.

- Sierra, C. 1998. **El cerdo feral (*Sus scrofa*) en la isla del Coco, Costa Rica : Impactos provocados por la predación y las alteraciones al suelo.** Tesis para optar el grado de Magister en el Manejo de Vida Silvestre. P.M.V.S., Universidad Nacional de Heredia. 73 p.
- Singer, F.; Swank, W.; Clebsch, E. 1984. **Effects of Wild Pig Rooting in a Deciduous Forest.** Journal of Wildlife Management. 48(2): 464-473.
- Smith, H.; Davison, W.; Nettles, V.; Gerrish R. 1982. **Parasitisms among Wild Swine in Southeastern United States.** JAVMA 181(11): 1281-1284.
- Snell, H.M.; Snell, H.L. 1996. **Goats and Pigs again ?** Noticias de Galápagos. No 56. University of New Mexico Printing Service, Albuquerque, New Mexico, USA. 28pp.
- Soulsby, E. 1987. **Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos.** Editorial Interamericana S.A., México. pp 804.
- Stallknecht, D.; Kavanaugh, D.; Corn, J.; Eernisse, K.; Comer, J.; Nettles, V. 1993. **Feral Swine as a Potential Amplifying Host for Vesicular Stomatitis Virus New Jersey Serotype on Ossabaw Island, Georgia.** Journal of Wildlife Diseases, 29 (3) : 377-383.
- Tate J., 1984. **Tecnicas for controlling Wild Hogs in Great Smokey Mountains National Park: Proceeding of a Workshop.** Nov. 1983. U.S. Govt. Reports 85(19): 56.
- Timoney, J.; Gillespie, J.; Scott, F.; Barlough, J. 1988. **Hagan and Bruner's Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals.** Cornell University Press. pp 951.
- Ugalde, L.1998. **Estudio Transversal Mediante la Relación entre la Seroprevalencia de Anticuerpos a Parvovirus Porcino, Síndrome Respiratorio y Reproductivo Porcino, Virus de Aujeszky y Paramixovirus La Piedad de Michoacán y Parametros Reproductivos en Cerdos de una Granja Comercial en Costa Rica.** Tesis para optar por el título de Licenciado en Medicina Veterinaria. Universidad Nacional. 65p.
- Van Der Leek, M.; Becker, H.; Humphrey, P.; Adams, C.; Belden, R.; Frankenberger, W.; Nicoletti, P. 1993. **Prevalence of *Brucella sp* Antibodies in Feral Swine in Florida.** Journal of Wildlife Diseases, 29 (3): 410-415
- Van Der Leek, M.; Becker, H.; Pirtle, E.; Humphrey, P.; Adams, C.; All, P.; Erickson, G., Belden, R.; Frankenberger, W.; Gibbs, E. 1993. **Prevalence of Pseudorabies (Aujeszky's Disease) Virus Antibodies in Feral Swine in Florida.** Journal of Wildlife Diseases, 29 (3): 403-409.

- Veitch, C. R.; Bell, B. D. 1990. **Eradication of Introduced Animals from the Islands of New Zealand.** Páginas 137-146. Towns, D.R., Daugherty, C. H., y I. A. E. Atkinson, eds. **Ecological Restoration of New Zealand Islands. Conservation Sciences Publication No 2.** Department of Conservation, Welllington. New Zealand. 323 pp.
- Vitousek, P.M. 1988. **Diversity and Biological Invasions of Oceanic Islands.** E.O. Wilson y F.M. Peter, eds. Biodiversity. National Academy Press, Washington.
- Wace, N.C.; Ollier, C.D., 1982. **Biogeography and Geomorpholgy os South Atlantic islands.** Páginas 733-758 National Geographic Research Reports. National Geographic Society, Washington, D.C.
- Woods, R.; Pirtle, E.; Sacks, J.; Gibbs, E. 1990. **Serologic Survey for Transmissible Gastroenteritis Virus Neutralizing Antibodies in Selected Feral and Domestic Swine Sera in the Southern United States.** Journal of Wildlife Diseases 26 (3): 420-422.
- Zygmunt, S.; Nettles, V.; Shotts, E.; Carmen, W.; Blackburn, B. 1982. **Brucellosis in Wild Swine: A Serologic and Bacteriologic Survey in the Southeastern United States and Hawaii.** JAVMA 181(11): 1285-1287.