

AISLAMIENTO, IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE AISLADOS DE CAMPO DE *Eimeria spp.* EN FINCAS BOVINAS DE VENEZUELA

Isolation, identification and characterization of field isolates of *Eimeria spp.*
 in bovine farms of Venezuela

Rita Tamasaukas*
Noris Roa**

* Laboratorio de Investigación y Prestación de Servicios
 en Sanidad Animal (LABIPRESAN),
 Universidad Rómulo Gallegos
 San Juan de los Morros, Estado Guárico, Venezuela
 Telefax 58-46-312670; 58-43-320729.

** Instituto de Investigaciones Zootécnicas, CENIAP-FONAIAP
 Maracay, Estado Aragua, Venezuela.
 Teléfono 58-43-831655.

RESUMEN

La Coccidiosis bovina es una de las enfermedades más importantes en los sistemas de producción intensivos, ubicándose como la tercera en relevancia económica a nivel mundial, por causar pérdidas de hasta 723 millones de dólares anuales. El presente trabajo contempló la determinación de la prevalencia y el aislamiento, identificación y caracterización de los aislados de campo de las *Eimeria spp.*, con especial énfasis en la *E. zuernii*, describiéndose la patología de la enfermedad por infección experimental de un animal susceptible con esta especie. Se procesaron un total de 636 muestras fecales de bovinos de 10 Estados de Venezuela, así como 1.509 muestras de heces del estado Guárico específicamente, obteniéndose una prevalencia de 53,6% en los 10 estados estudiados y de 40,5% en el Estado Guárico. Las características morfológicas, morfométricas y estructurales del aislado de *E. zuernii* fueron similares a las reportadas en la literatura.

Palabras clave: Coccidiosis bovina, prevalencia, *Eimeria spp.*, morfología, biología, *Eimeria zuernii*, patología.

ABSTRACT

Coccidiosis is one of the most important parasitic diseases of cattle mainly under intensive production system, affecting health and productivity and causing economic losses of approximately \$ 723 million per year around the world (3th. world most important disease). This work was carried out for established the prevalence, isolation, identification and characterization of fields isolates of *Eimeria spp.*, with especial attention to *E. zuernii*, describing the pathology of the disease by experimental infection of a susceptible bovine. A total of 636 faecal samples of bovine were processing from 10 Venezuela's states and also 1.509 faecal samples of Guarico state respective; obtaining a prevalence of 53,6% in the 10 studied states and 40,5% in Guarico state. Morphological, morphometrics and structural characterization of the isolate of *E. zuernii* were similar to described in the literature.

Key words: Bovine coccidiosis, prevalence, *Eimeria spp.*, morphology, biology, *Eimeria zuernii*, pathology.

INTRODUCCIÓN

La Coccidiosis bovina es una parasitosis intestinal causada por protozoarios de los géneros *Eimeria* y *Cryptosporidium*, que afecta comúnmente a los animales jóvenes, sobre todo en los menores de 1 año de edad. Conociéndose la en-

fermedad causada por la *Eimeria zuernii* como "diarrea roja de los terneros", por la disentería sanguinolenta que provoca, traduciéndose esta última en una rápida deshidratación y muerte de los animales enfermos, si no se suministra el tratamiento específico y oportuno. La coccidiosis bovina es un enfermedad cosmopolita, y en ganaderías en climas templados tiene carácter estacional, mientras que en los países tropicales y sub-tropicales, su ciclo funciona ininterrumpidamente durante todo el año; encontrándose las formas de transmisión de estos parásitos (oocystos u ooquistes) en la mayoría de los exámenes coprológicos, en los muestreos de rebaños en Venezuela. De las 19 especies de coccidias (*Eimeria spp.*) reportadas a nivel mundial y que afectan a los bovinos, 10 han sido tipificadas en Venezuela [52], siendo la *E. zuernii* y la *E. bovis* a las que se les atribuye mayor acción patógena, por la gran destrucción y cambios patológicos que provocan en la pared intestinal de sus hospedadores naturales. Esta enfermedad está presentándose con mayor frecuencia, debido a la intensificación de los sistemas de producción con bovinos en nuestro país.

De allí se desprende el objetivo principal de este trabajo, el cual consistió en conocer cabal y sistemáticamente esta afección, mediante el aislamiento, identificación y caracterización de las especies de *Eimeria*, aisladas de muestreos coprológicos en fincas bovinas de Venezuela, y en especial, de una de la especies más patógenas, como lo es la *E. zuernii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación del material parasitológico

Obtención y propagación del material parasitológico:

Se recolectaron muestras de heces, por vía rectal, de becerros (as) y adultos, afectados o no por coccidiosis, en diversas fincas de explotación bovina, lechera o de doble propósito, ubicadas en el estado Guárico (para determinar la prevalencia de las coccidias del género *Eimeria* en la zona oriental del estado, así como la identificación y caracterización morfológicas de las especies encontradas) y en los estados Apure, Aragua, Barinas, Carabobo, Falcón, Portuguesa, Táchira, Yaracuy y Zulia (para calcular la prevalencia general, obtener el aislado de campo de *Eimeria zuernii* y lograr su identificación y caracterización).

Las heces fueron colocadas en bolsas plásticas, debidamente identificadas y conservadas en refrigeración a 4°C [53] para su posterior procesamiento en el Laboratorio de Investigación de Sanidad Animal de la Universidad Rómulo Gallegos en San Juan de Los Morros.

Procesamientos de las muestras de heces: Las muestras se procesaron utilizando el método de concentración por flotación-centrifugación en solución Sheather azúcar según la técnica Wisconsin modificada [12], para determinar la existencia o no de oocystos de coccidias en las muestras.

Se estimó el porcentaje relativo de las especies de *Eimeria* presentes en las muestras, eligiéndose las que presentaron un predominio no menor del 95% de *E. zuernii* para el estudio de identificación, caracterización y patología de la enfermedad coccidial. Las muestras escogidas se resuspendieron en agua, limpiando el material fecal por pasajes sucesivos por tamices de cobre (Nos. 20, 40, 80, 100 y 200 mesh, respectivamente), a fin de eliminar los residuos de alimentos y otros contaminantes; el material filtrado se resuspendió en agua y se procesó por una modificación del método de concentración por sedimentación [33,41], en cilindros graduados de 2 litros de capacidad, durante 24 horas.

Posteriormente, se decantó el sobrenadante, recolectándose el sedimento, el cual se colocó a esporular a temperatura ambiental del laboratorio que osciló entre 20-25°C, en una solución de dicromato de potasio al 2,5% con aireación y agitación constante [53], de esta manera se determinó el período de esporulación del aislado de campo de *E. Zuernii*; para ello se calculó el porcentaje de esporulación al contar 100 oocystos, cuando al menos el 80% de éstos tenían los esporozoitos completamente formados [14].

Conservación de las muestras de campo: Al finalizar el período de esporulación se escogió el material, añadiendo nueva solución de dicromato de potasio al 2,5% para reponer las pérdidas por evaporación, colocándolo en un envase con tapa, y mantenido en refrigeración a 4°C, hasta su utilización posterior [3,45,53].

Conteo del número de oocystos: Del material esporulado se tomó una alícuota del volumen total y utilizando el hemocitómetro (cámara de Neubaüer) se contaron los oocystos perfectamente esporulados encontrados en los recuadros para recuento de glóbulos rojos, contando ambas cámaras; el número obtenido se dividió entre 2 y el resultado se multiplicó por 10.000, lo cual dió el número de oocystos esporulados presentes en 1cc de la suspensión original; se realizaron 10 conteos y se tomó el valor promedio [5], para así calcular la concentración de oocystos en la suspensión madre.

Identificación y caracterización de los aislados de campo: Las especies de *Eimeria* se identificaron y caracterizaron en base a sus características morfológicas (forma, color, presencia o no de micrópilo), morfométricas (tamaño = largo x ancho) y estructurales (en oocystos esporulados: número, forma y tamaño de esporocystos y esporozoitos); realizando las mediciones, con un ocular micrométrico incorporado al microscopio binocular Carl Zeiss, a un total de 100 oocystos, determinándose luego el tamaño promedio [14,21,29,38]; calculando el índice morfológico de acuerdo al método descrito por Hidalgo y Cordero [14].

Las microfotografías se tomaron con el equipo de fotografía Carl Zeiss instalado en un microscopio marca Carl Zeiss, modelo Standard 16, y películas fotográficas ASA 100.

Animales experimentales

Se muestrearon animales de todas las edades y sexos, infectados o no naturalmente con coccidias, en fincas comerciales y experimentales bovinas, lecheras o de doble propósito, ubicadas en los estados Apure, Aragua, Barinas, Carabobo, Falcón, Guárico, Portuguesa, Táchira, Yaracuy y Zulia, a fin de obtener el material parasitológico a evaluar (muestra de campo).

Se utilizó un becerro Holstein puro de 3 meses de edad, libre de coccidias, clínicamente sano, para realizar la propagación de la muestra de *E. zuernii* e incrementar la cantidad y calidad del aislado de campo a caracterizar. Este animal previo a la inoculación experimental, se inmunosuprimió con una inyección única de Dexametasona, a una dosis total de 1 mg/kg de peso corporal, por vía intramuscular [36,47,48].

Al 3^{er} y 10^{mo} días de la inmunosupresión, se administró un inóculo de 500.000 oocystos esporulados de *E. zuernii* de la muestra de campo, en cada oportunidad, por vía oral, mediante sonda buco-esofágica [4,44].

Se tomaron muestras de heces dos veces al día cada 12 horas, hasta el día del comienzo de la excreción de oocystos para determinar el período pre-patente del aislado de campo; y posterior a ello, una vez al día hasta que disminuyó significativamente el número de oocystos excretados [54]. Se conservaron las heces del becerro, provenientes de los días de mayor excreción de oocystos, a fin de obtener el material parasitológico que sirvió de inóculo para la fase de propagación y caracterizar el aislado de campo de *Eimeria zuernii* así como evidenciar los síntomas y signos clínicos de la coccidiosis aguda.

Observaciones clínicas

Se realizaron observaciones diarias de la consistencia de las heces del becerro inoculado experimentalmente, y de las manifestaciones clínicas que presentó el animal en el transcurso del ensayo (anorexia, diarrea, tenesmo) registrándose estos datos, para determinar el período patente y la sig-nología clínica de la enfermedad [13,24,45].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestreo de campo

Prevalencia relativa de coccidias bovinas (*Eimeria spp.*): Se procesaron un total de 636 muestras de heces de bovinos en un período de cinco meses, en varios estados del país, resultando 339 muestras positivas, para una prevalencia relativa del 53,6%, con síntomas y signos evidentes de coccidiosis aguda en los animales muestreados en un 19,8%; en la región oriental del estado Guárico, la prevalencia de las coccidias fue de un 40,5% de un total de 1.509 muestras de heces procesadas, observándose las siguientes especies de coccidias: *E. zuernii*, *E. alabamensis*, *E. bovis*, *E. subspherica*, *E. cylindrica*, *E. wyomingensis* y *E. auburnensis*.

La prevalencia general encontrada en este trabajo de 53,6% (en los 10 estados estudiados), fue mayor que la reportada en el Zulia, de un 50% [52]; de 48% en un finca del estado Trujillo [32], inferior a la obtenida por Moissant [32] de un 58% en un segundo lote de animales en Trujillo y a la de 40,5% en varias regiones del país [51], fluctuante entre 1,9% y 57,7% en Bolívar según Moreno y Gómez [34].

Al contrastar las prevalencias encontradas en esta investigación (promedio general de los 10 estados 53,6% y en el oriente del Guárico 40,5%) con los valores obtenidos en otros países, se tiene que Levine e Ivens [21] señalan que la prevalencia de la coccidiosis bovina a nivel mundial oscila entre un 5% y un 64%, Kasim y Al-Shawa [19] la ubican en un 34% en Arabia Saudita; Musaeu y col. en un 9% en la Unión Soviética [35]; en un 80% en China según Mo y col. [31]; en un 5% a 42% en Francia [27] y en un 33,6% en Cuba [42].

Distribución geográfica: En cuanto a la distribución geográfica de la prevalencia de las coccidias bovinas se observó que los mayores valores se ubicaron en Zulia (80,0%), Táchira (70,0%), Yaracuy (67,7%), Falcón (62,1%), Apure (48,3%), Guárico (47,1%). Con prevalencia de infecciones agudas en mayor grado en Yaracuy (54,8%), Zulia (48,8%), Táchira (37,5%) y Falcón (25,0), sobre todo de infecciones mixtas, a excepción de dos casos en el Táchira donde se evidenciaron infecciones agudas provocadas por *E. zuernii*. En la región oriental de Guárico fue del 40,5%; en el estado Zulia la prevalencia determinada en este trabajo (80,0%) fue mayor, a diferencia de la reportada por Surumay y col. [52] de un 50%.

La distribución etaria de la prevalencia fue mayor en los animales menores de un año de edad.

Aislamiento de *E. zuernii*: De todas las muestras de heces procesadas, se obtuvieron dos que presentaron un predominio del 98% de la especie *E. zuernii*, aisladas del estado Táchira de dos casos clínicos de coccidiosis aguda, las cuales se procesaron para la obtención del inóculo experimental para el ensayo de propagación.

De allí que la mayoría de los casos de coccidiosis bovina se presentan como infecciones mixtas, siendo muy difícil de encontrar cuadros por infecciones puras; estableciéndose que la *E. zuernii* y la *E. bovis* son las que originan las infecciones agudas en forma individual, acorde con lo reportado por Fox [10,11]; Dzerzhinski [6]; Figueiredo y col. [8]; Kasim y Al-Shawa [19]; Hovelson [15]; Kennedy y Kralka [20]; Watanabe y col. [55]; Urriola [52], aunque las demás especies pueden contribuir al cuadro clínico de la enfermedad [52].

Identificación y caracterización del aislado de campo de *E. zuernii*

Período de esporulación: El período de esporulación del aislado de campo de *E. zuernii* fue de 96 horas a temperatura entre 20-25°C; valor inferior al señalado por Euzebey [7] de 5 días a temperatura ambiente; de 9 a 10 días a 12°C según

Marquardt y col. [28] y Schillhorn van Veen [43], de 6 días a 15°C.

El valor obtenido de 96 horas fue similar al indicado por Urriola [52] de 96 horas, y superior al de Marquardt y col. [28] de 65 horas a 20°C, de 23 a 24 horas a 30-32°C; de 48 a 72 horas según Mayaudón y Power [30], y de Schillhorn van Veen [43] de 3 días.

De allí se deduce que las temperaturas óptimas para el proceso de esporulación fluctúan entre los 20-30°C; alargándose éste a medida que la temperatura sea menor [25,28].

Es conveniente recalcar que esta característica biológica (determinación del período de esporulación) es de suma importancia para la identificación de las especies de *Eimeria*, ya que generalmente se mantiene constante en cada especie, con ligeras variaciones de acuerdo a las condiciones en que se desarrolle el proceso de esporulación (temperatura, tensión de oxígeno, agitación, humedad) de acuerdo a lo referenciado por Long [26]. Además, resalta el hecho de reconocer eficazmente el punto final para precisar el término del período de esporulación, el cual debe asumirse según Long [26] cuando los cuerpos de Stieda o gránulos refráctiles de los esporocystos están claramente visibles, tal como se realizó en este trabajo.

Urriola [52] determinó el período de esporulación de otras especies, entre ellas de *E. alabamensis* de 96-140 h; de *E. auburnensis*, *E. subspherica* y *E. ellipsoidalis* de 48-96 h; de 48-72 h en *E. bovis*, de 120-192 h en *E. bukidnonensis*; de 72-120 h en *E. canadensis*; de 36-48 h en *E. cylindrica* y de 120-168 h en *E. wyomingensis*.

En otro orden de ideas, se observó que la conservación del material de oocystos (esporulados y no esporulados) en

refrigeración a 4°C fue eficiente, ya que se evidenció la supervivencia y viabilidad de los oocystos de *E. zuernii*; de allí Marquardt y col. [28] señalaron que la supervivencia de los oocystos no esporulados de *E. zuernii*, a bajas temperaturas, es mayor que la de los oocystos de *Eimeria* aviares.

Período pre-patente: En el animal inoculado, el período pre-patente del aislado de campo de *E. zuernii* fue de 11 días. Davis y Bowman [4] lo estimaron en 14 días, Schillhorn van Veen [43] en 16 a 18 días, Euzeby [7] en un promedio de 17 días y de 10 días [52].

Al igual que el período de esporulación, la determinación del período pre-patente es otra característica biológica de las *Eimeria* spp., que debe ser tomada en cuenta para la identificación de la especie de coccidia involucrada en infecciones experimentales o de campo, ya que se observa que el valor obtenido para *E. zuernii* fue menor que el reportado para *E. bukidnonensis* (de 16 a 18 d P-I) según Borrelli [1] y de 13 días P-I para *E. wyomingensis* [52].

Período patente: El período patente de la coccidiosis bovina por *E. zuernii* fue de siete días en el animal propagador, observándose los siguientes síntomas y signos clínicos: anorexia, depresión, diarrea acuosa sanguinolenta, deshidratación severa, enflaquecimiento, depresión, tenesmo y postración, FIG. 1.

Tuvo una producción promedio de oocystos de 628.000 opg, con un pico de excreción máxima al día 12 post-inoculación. Esta producción fue superior a la determinada por Fitzgerald [9] quién expresó la tasa de excreción en infecciones experimentales, de 100.000 opg o más, a diferencia de infecciones naturales que fue de 324.000 opg; y la de Marquardt [29] quien la reportó en 172.000 opg. Davis y Bowman [4] indicaron

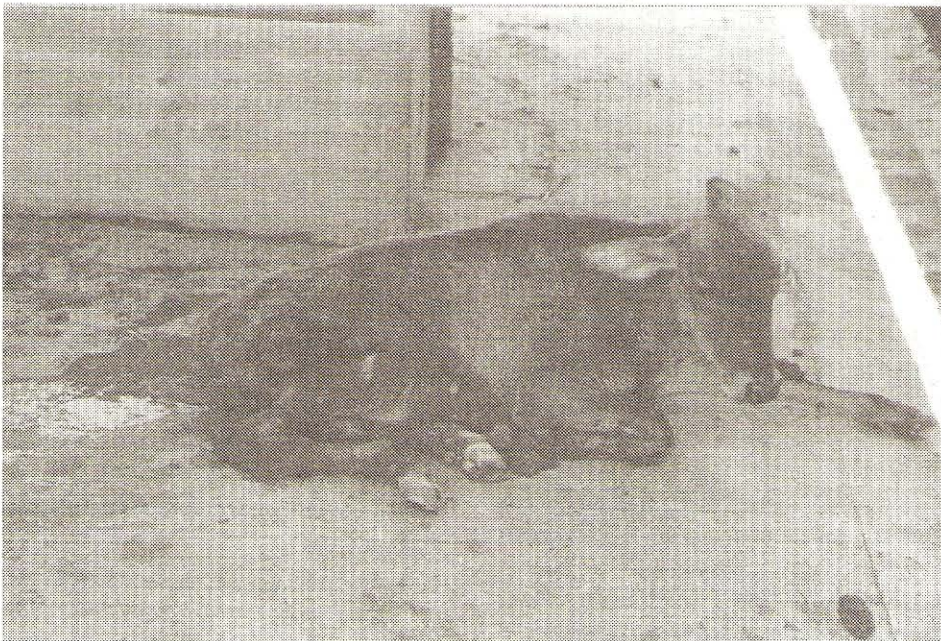


FIGURA 1. BECERRO CON COCCIDIOSIS AGUDA POR *Eimeria zuernii*: SE OBSERVA LA DIARREA PROFUSA, DESHIDRATACIÓN, ENFLAQUECIMIENTO Y POSTRACIÓN DEL ANIMAL (INFECCIÓN NATURAL).

en su estudio sobre *E. zuernii* un período patente de 12,8 días, de 10 a 12 días [43] con un pico de excreción al día 19.5 P-I [4] y de 6 a 8 días [7].

Por otra parte, contrario a lo señalado por Stockdale y Niilo [48], en el presente trabajo no hubo dificultad para producir la enfermedad clínica causada por *E. zuernii*, aunque se trató el becerro propagador inoculado con dexametasona, para inmunosuprimirlo y garantizar el desarrollo del parásito.

Tampoco se presentaron signos nerviosos, como lo indicaron Julián y col. [18], Jolley y Bergstrom [16], y Urriola [52].

Caracteres morfológicos, morfométricos y estructurales de los oocystos de *E. zuernii*: Los oocystos de *E. zuernii* presentaron forma esférica, subesférica y ovoide, de pared lisa de doble membrana, de 1 a 2 μ de espesor; de tonalidad azulado-amarillentos, traslúcidos; sin micrópilo ni cápsula polar; con un tamaño promedio de 18,5 μ x 19,5 μ (largo x ancho), con valores extremos de 15-19 μ de largo y 18-20 μ de ancho; sin gránulos polares ni residuo oocystal. Los esporocystos en número de cuatro, de forma ovoidal, con una membrana simple, de tamaño promedio de 8,5 μ de largo por 5 μ de ancho, con un cuerpo de Stieda pequeño en el extremo más agudo, con dos esporozoitos cada uno en su interior, de tamaño promedio de 8,5 μ x 1,9 μ (largo x ancho) con un pequeño gránulo refráctil, FIGS. 2 y 3. Se observó un relativo pleomorfismo de la forma subesférica a ovoidal, tanto en oocystos esporulados como en los no esporulados, con un índice morfológico de 0.94. Respecto al tamaño de los oocystos, Joyner y Long [17] indican que este parámetro morfométrico no es muy constante, y que varía de acuerdo al estado de patencia, por lo que cuando se observan dimensiones muy variables, éstas deben someterse a análisis estadísticos, para

eliminar esa variabilidad y determinar así un valor morfométrico confiable.

Por ello, Hidalgo y Cordero [14] recomiendan el cálculo del índice morfológico, el cual expresa la relación longitud/ancho de los oocystos, midiendo 600 oocystos al menos; por lo tanto, un valor más seguro para eliminar la variabilidad, al analizar los valores promedios, la desviación estándar, la covarianza y el coeficiente de correlación lineal de longitud y anchura (r); indicadores de cuando hay o no un agrupamiento de los datos obtenidos en torno a los valores centrales de la distribución. Aunque el índice morfológico, descrito por primera vez por Norton y Joyner [26] al comparar oocystos de *Eimeria* spp. aviaries, sólo lo han reportado Hidalgo y Cordero [14] en trabajos sobre *Eimeria* spp. de ovinos y caprinos, no hallándose referencias de su utilización en coccidias bovinas hasta la fecha. Al contrario, la forma de los oocystos es más constante, señalando Long [26] que este carácter morfológico es más representativo y estable, a pesar de haber cierto pleomorfismo en las *Eimeria* [2,39], pero por lo general, la forma se mantiene dentro de las variaciones en el tamaño. De allí que el índice morfológico es un parámetro eficaz en los estudios de caracterización morfológica y morfométrica de los oocystos de *Eimeria* ya sea en aves o en mamíferos.

En cuanto a los detalles morfológicos de *E. zuernii* encontrados en este trabajo, son similares a los reportados por diversos autores, entre otros Nyberg y Hammond [37,38], Pellérdy [40], Soulsby [46], Levine e Ivens [22], Levine [23], Long [26], Urriola [52], Tamasaukas [49,50]. Nyberg y Hammond [37,38] indicaron que los oocystos de *E. zuernii* presentan además la forma esférica, con los esporocystos elongados con una membrana simple, presente el residuo esporo-

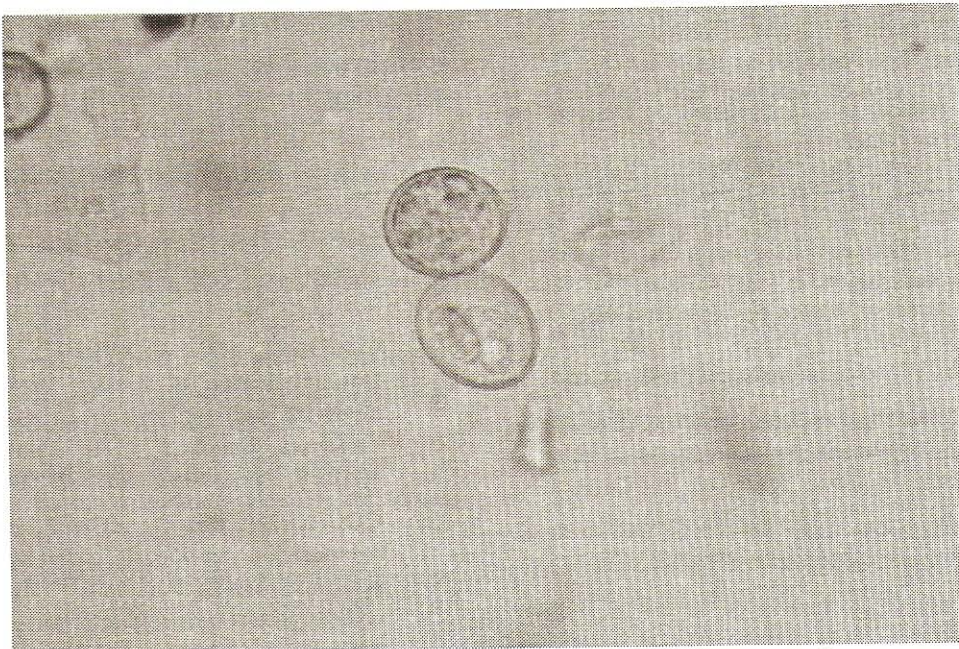


FIGURA 2. OOCYSTOS DE *Eimeria zuernii*: (ARRIBA) NO ESPORULADO, DE FORMA ESFÉRICA; (ABAJO) ESPORULADO, DE FORMA OVOIDE (EXAMEN EN FRESCO) (1000X).

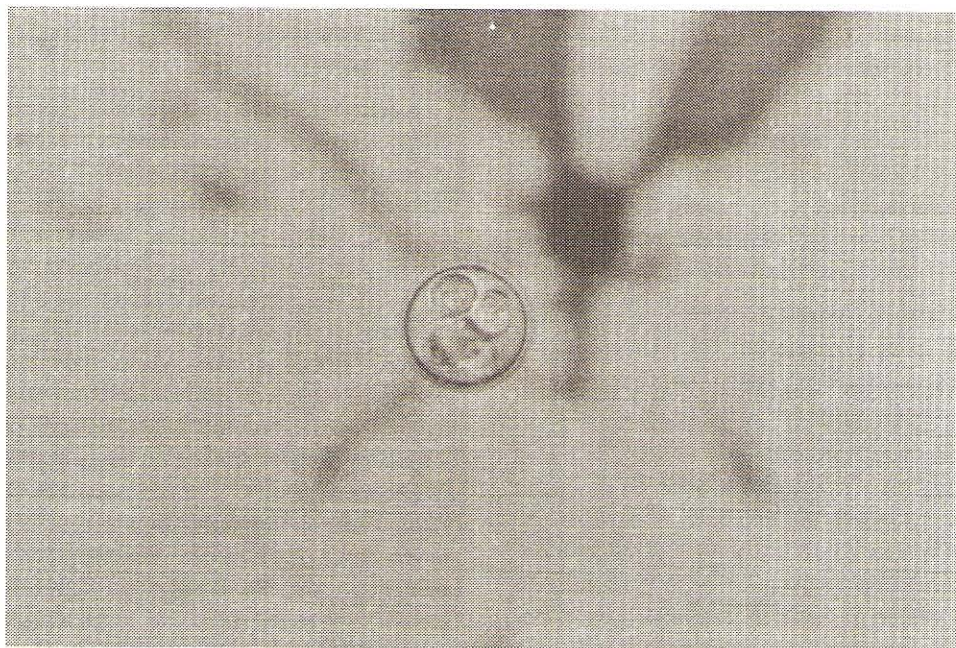


FIGURA 3. OOCYSTO ESPORULADO DE *Eimeria zuernii*: FORMA ESFÉRICA (EXAMEN EN FRESCO) (1000X).

cístico como un pequeño acúmulo de gránulos, y que a diferencia de la *E. auburnensis* no tiene la capa interna (de la pared del oocysto), la membrana de aspecto rugoso y de un color oscuro. Por lo tanto, los estudios descriptivos de las especies de *Eimeria* en los diferentes animales, deben incluir la evidenciación de la superficie de la pared de los oocystos, espesor de la misma, número de capas, color, textura de la superficie, tamaño, forma, presencia o no de estructuras (micrópilo, cápsula polar, cuerpos refráctiles), tal como lo indica Long [26], por cuanto estos aspectos son de valor sistemático en la identificación de especies.

CONCLUSIONES

La prevalencia relativa de las especies de *Eimeria* fue alta, al encontrarse en un 53,6%.

Los estados del país muestreados donde se obtuvieron valores más altos de prevalencia fueron: Zulia, Táchira, Yaracuy, Falcón, Apure y Guárico, éste último con una prevalencia del 40,5% en la región oriental.

La prevalencia de coccidiosis aguda fue de un 19,8%.

Predominaron las infecciones mixtas por *Eimeria* spp.

Las especies predominantes fueron *E. zuernii*, *E. alabamensis*, *E. bovis* y *E. subspherica*, aunque sólo se caracterizó a la primera de ellas.

El período de esporulación del aislado de campo de *E. zuernii* fue de 96 horas a temperatura de 20-25°C.

El período pre-patente del aislado de campo de *E. zuernii* fue de 11 días; mientras que el período patente lo fue de 7 días.

El cuadro clínico de la infección pura con *E. zuernii* contempló: anorexia, depresión, diarrea acuosa sanguinolenta, deshidratación severa, enflaquecimiento y postración.

El aislado de campo de *E. zuernii* no provocó cuadros de coccidiosis nerviosa.

Los oocystos de *E. zuernii* presentaron formas: esféricas, subesféricas y ovoidales, con un tamaño promedio de 18,5% x 19,5%, sin micrópilo, sin cápsula polar, con tonalidades azul-amarillentas y traslúcidos.

Se evidenció pleomorfismo en los oocystos de *E. zuernii*, de subesférica a ovoidal.

El índice morfológico del aislado de campo de *E. zuernii* fue de 0,94.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BORRELLI, D. Osservazioni su *Eimeria bukidnonensis* Tubangui, 193 del bovino. **Parassitologia**. 13:127-138. 1971.
- [2] COUDERT, P.; LICOIS, D. and STREUN, A. Characterization of *Eimeria* species: I. Isolation and study of pathogenicity of a pure strain of *Eimeria perforans* (Leuckart, 1879; Sleriter and Swellegrebel, 1912). **Z. Parasitenkd.** 59:227-234. 1979.
- [3] COURTNEY, CH. H.; ERNST, J.V. and BENZ, G.W. Redescription of oocysts of the bovine coccidia *Eimeria bukidnonensis* Tubangui, 1931 and *Eimeria wyomingensis* Huizinga and Winger, 1942. **J. Parasitol.** 62(3):372-376. 1976.

- [4] DAVIS, L.R. and BOWMAN, G.W. The endogenous development of *Eimeria zuernii*, a pathogenic coccidium of cattle. **Am. J. Vet. Res.** 18:569-574. 1957.
- [5] DORNEY, R.S. Evaluation of a microquantitative method of counting coccidial oocysts. **J. Parasitol.** 50 (4):518-522. 1964.
- [6] DZERZHINSKI, V. Coccidiosis in cattle in the pavlodar and semipalatinsk regions. **Izvestiya Akademii Nauk Kasakhskoi.** 4:27-28. 1984.
- [7] EUZEBY, J. **Protozoologie medicale comparee.** Vol. II. Collection Fondation Marcell Merieux. France: 110-268. 1987.
- [8] FIGUEREIDO, P.; SERRA N. and GRISI, L. Variação da parasitose por eimerias em bovinos Holando-Zebu da acordo com a faixa de idade dos hospedeiros. **Atas Soc. Biolo. Rio de Janeiro.** 25:83-88. 1985.
- [9] FITZGERALD, P.R. Coccidia in hereford calves on summer and winter ranges and in feedlots in Utah. **J. Parasitol.** 48 (3):347-351. 1962.
- [10] FOX, J.E. Bovine coccidiosis: a review, including field safety studies with decoquinate for prevention. **Modern Vet. Pract.** 59 (8):599-603. 1978.
- [11] FOX, J.E. Coccidiosis: a growing concern. **Bov. Practition.** 22:158-159. 1987.
- [12] GONZÁLEZ, M. Parasitología aplicada en la práctica de la medicina bovina. Fac. Cienc. Vet. Univ. Central Vzla. Maracay, Venezuela. (Mimeo.): 22 pp. 1980.
- [13] HAMMOND, D.M.; CLARK, W.N. and MINER, M.I. Endogenous phase of the life cycle of *Eimeria auburnensis* in calves. **J. Parasitol.** 47:591-596. 1961.
- [14] HIDALGO, M.R. and CORDERO, M. Epizootiología de la coccidiosis ovina por *Eimeria granulosa* en la Provincia de León. **An. Fac. Vet. León.** 32:73-83. 1986.
- [15] HOVELSON, D.W. Coccidiosis in first lactation dairy cattle. **Bov. Pract.** 22:160-161. 1987.
- [16] JOLLEY, W.R. and BERGSTROM, R.C. Summer coccidiosis in wyoming calves. **Vet. Med. Small Anim. Clin.** 72:218-219. 1977.
- [17] JOYNER, L.P. and LONG, P.L.. The specific characters of the *Eimeria*, with special reference to the coccidia of the fowl. **Avian Pathol.** 3:147-157. 1974.
- [18] JULIAN, R.J.; HARRISON, K. and RICHARDSON, J.A. Nervous signs in bovine coccidiosis. **Modern Vet. Pract.** 57 (9):711-718. 1976.
- [19] KASIM, A. and AL-SHAWA, A. Prevalence of eimerian faeces of cattle in Saudi Arabia. **Vet. Parasitol.** 17 (2): 95-99. 1985.
- [20] KENNEDY, M. and KRALKKA, R. Evaluation of lasalocid as a coccidiostat in calves: titration, efficacy and comparison with monensin and decoquinate. **Can. Vet. J.** 28:124-125. 1987.
- [21] LEVINE, N.D. and IVENS, V. The coccidian parasites (Protozoa:Sporozoa) of ruminants. Illinois Biol. University Illinois Press. **Monographs.** 44:278. 1970.
- [22] LEVINE, N.D. The apicomplexa and the coccidia proper. In: **Protozoan Parasites of the Domestic Animals and of Man.** 2d. Ed. Burquess Publishing Comp. Minneapolis: 156-254. 1973.
- [23] LEVINE, N.D.; IVENS, V. and FRITZ, T.E. *Eimeria christensenii* sp. N. and other coccidia (Protozoa:Eimeriidae) of the goat. **J. Parasitol.** 48 (2): 255-269. 1962.
- [24] LIMA, J.D. Eimerose dos rumiantes. In: **Seminário Brasileiro de Parasitología Veterinária, 2,** Fortaleza (1980). Anais... Brasília, Brasil: 79-97. 1980.
- [25] LONG, P.L. Pathology and pathogenicity to coccidial infections. In: **The coccidia *Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma*, and related genera.** D.M. Hammond and P.L. Long. (eds). University Park Press. Baltimore: 253-294. 1973.
- [26] LONG, P.L. **The biology of the coccidia.** University Park Press. Baltimore, USA. 502 pp. 1982.
- [27] MAGE, C. and REYNAL, P. Epidemiological observations of coccidiosis in suckler calves in France. In: **Coccidia and intestinal coccidiomorphs. Vth. Intern. Coccidiosis Conf.** De. INRA. Tours, France. 49:457-460. 1989.
- [28] MARQUARDT, W.C.; SENGER, C.M. and SEGHETTE, L. The effect of physical and chemical agents on the oocysts of *Eimeria zuernii* (Protozoa:Coccidia). **J. Protozool.** 7 (2):186-189. 1960.
- [29] MARQUARDT, W.C. Subclinical infections with coccidia in cattle and their transmission to susceptible calves. **J. Parasitol.** 48 (2):270-275. 1962.
- [30] MAYAUDÓN, H. y POWER, L. **Las enfermedades parasitarias de los animales domésticos de Venezuela.** Vol. I. Fac. Cienc. Vet. Univ. Centr. Vzla. Maracay, Venezuela. 165pp. 1974.
- [31] MO, Z.; HUANG, Q. and WANG, D. Epidemiological investigation on coccidiosis in farm cattle in Zhennig County, Guizhou province. **Chinese J. Vet. Sci. Technol.** 2:20-22. 1986.
- [32] MOISSANT, E. Parasitismo gastrointestinal en bovinos de la hacienda "El Dividive", distrito Carache, estado Trujillo. Fac. Cienc. Vet. Univ. Centr. Vzla. (Trabajo de Ascenso). 82 pp. 1984.

- [33] MORALES, G. and PINO, L.A. **Manual de diagnóstico helmintológico en rumiantes**. Fed. Col. Méd. Vet. Vzla. (ed.). Caracas, Venezuela. 99 pp. 1977.
- [34] MORENO, L. y GÓMEZ, E.A. Parásitos gastrointestinales y *F. hepática* en bovinos del asentamiento Las Majaguas, estado Portuguesa. **Vet. Trop.** 7:19-30. 1991.
- [35] MUSAEV, M.; SURKOVA, A.; GAIBOVA, G.; MANAFOVA, Sh. and ISAZADE, D.. Prevalence of eimerian cattle breeds imported into eastern Azerbaijan. **Biologicheskii Nauk.** 5:35-40. 1986.
- [36] NILO, L. The effect of dexametason on bovine coccidiosis. **Can. J. Comp. Med.** 34:325-328. 1970.
- [37] NYBERG, P.A. and HAMMOND, D.M. Excystation of *Eimeria bovis* and other species of bovine coccidia. **J. Protozool.** 11:474-480. 1964.
- [38] NYBERG, P.A. and HAMMOND, D.M. Description of the sporulated oocysts and sporozoites of four species of bovine coccidia. **J. Parasitol.** 51 (4):669-673. 1965.
- [39] PARKER, B.B. and DUSZYNSKI, D.W. Polymorphism of Eimerian oocysts: a dilemma posed by working with some naturally infected hosts. **J. Parasitol.** 72 (4):602-604. 1986.
- [40] PELLÉRDY, L.P. **Coccidia and coccidiosis**. Hungarian Academy of Science. Budapest. Hungary. 657 pp. 1965.
- [41] RIVERA, M.A. **Manual de prácticas de enfermedades parasitarias**. 1a. ed. Fac. Cienc. Vet., UCV. Maracay, Venezuela. 39 pp. 1986.
- [42] RODRÍGUEZ, N.; MORENO, A.; FUSTES, E.; GONZÁLEZ, R. and PERCEDO, M. Estacionalidad de la coccidiosis del ternero. **Rev. Salud Anim.** 8:273-278. 1986.
- [43] SCHILLHORN van VEEN, T.W. Coccidiosis in ruminants. **Comp Food Anim.** 8 (10): F52-F58. 1986.
- [44] SCHOLTYSECK, E.; HAMMOND, D.M. and ERNST, J.V. Fine structure of the microgametes of *Eimeria perforans*, *E. stiedae*, *E. bovis* and *E. auburnensis*. **J. Parasitol.** 52 (5):975-987. 1966.
- [45] SOEKARDONO, S.; ERNST, J.V. and BENZ, G.W. The pre-patent and patent periods of *Eimeria alabamensis* and further description of the exogenous stages. **Vet. Parasitol.** 1:19-33. 1975.
- [46] SOULSBY, E.J. **Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals**. 6th. Ed. Williams & Wilkins Com. Baltimore, USA. 824 pp. 1968.
- [47] STOCKDALE, P.H.G. Schizogony and gametogony of *Eimeria zuernii* (Rivolta, 1878) Martin, 1909. **Vet. Parasitol.** 1:367-376. 1976.
- [48] STOCKDALE, P.H.G. and NILO, L. Production of bovine coccidiosis with *Eimeria zuernii*. **Can. Vet. J.** 17 (2): 35-37. 1976.
- [49] TAMASOUKAS, R. Evaluación de la patogenicidad de un aislado de campo de *Eimeria zuernii* (Apicomplexa: Eimeriidae). En: **Resúmenes del IX Congreso Latinoamericano de Parasitología "XXV Aniversario FLAP", I Congreso Venezolano de Parasitología "Dr. Arnoldo Gabaldón"**. (12-16 Noviembre, 1989; Caracas, Venezuela): Resumen 212. 1989.
- [50] TAMASOUKAS, R. Efectividad del amprolium en el control de la coccidiosis bovina a nivel de campo. En: **Resúmenes de I Jornada de Investigación** Universidad Rómulo Gallegos. (24-26 Abril, 1991; San Juan de los Morros, Venezuela): 2-3. 1991.
- [51] TAMASOUKAS, R. Eficacia del amprolium contra la coccidiosis bovina. En: **Resúmenes de las 2das. Jornadas en Investigación**. Universidad Rómulo Gallegos. (25-26 Noviembre, 1993; San Juan de los Morros, Venezuela). 36 pp. 1993.
- [52] URRIOLOA, L. Evaluación parasitológica y clínica de bovinos infectados experimentalmente con coccidias (*Eimeria spp.*). Fac. Cienc. Vet. Univ. Central Vzla. (Tesis Mg. Sci.) Maracay, Venezuela. 152 pp. 1990.
- [53] VERCRUYSSSE, J. The coccidia of sheep and goats in Senegal. **Vet. Parasitol.** 10:297-306. 1982.
- [54] VETTERLING, J.M. Coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of swine. **J. Parasitol.** 51 (6):897-912. 1965.
- [55] WATANABE, S.; KONO, A.; SAKAI, J.; UI, A.; YAMAGUCHI, Y.; SATO, J.; OBA, N.; OKASAKI, M.; KONO, H. and TANEICHI, A. Therapeutic effect and influence of a sulpha drug on the body weight of grazing cattle with coccidiosis. **J. Japan Vet. Med. Assoc.** 41 (2):119-122. 1988.