



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“ EFECTO DE LA IRRADIACION GAMA (^{60}Co) SOBRE
LA SEVERIDAD DE LAS LESIONES PRODUCIDAS
POR OOQUISTES DE EIMERIA TENELLA ”

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
BIBLIOTECA - UNAM

T E S I S

Que para obtener el título de
Médico Veterinario Zootecnista

P R E S E N T A

MA. GUADALUPE MONTERRUBIO KURI

ASESOR: M. V. Z. REYNALDO MORENO D.

MEXICO, D. F. 1983



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JNAM
1983
1635
e.j.-b
P-t-83-1186



E I E A Y

NON-CONFIDENTIAL

SECRET

A MIS PADRES:

SR. JOSE MONTERRUBIO CARILLO
SRA. SUSANA KURI DE MONTERRUBIO

POR TODO EL CARIÑO, CONFIANZA Y GRAN AMOR QUE
SIEMPRE ME HAN BRINDADO.

A MIS ABUELOS:

SR. JUAN SOLORZANO GOMEZ
SRA. MATILDE P. DE SOLORZANO

CON TODO EL RESPETO Y CARIÑO
QUE LES TENGO.

A MIS HERMANAS, A JORGE MI HERMANO, Y A MIS CUÑADOS

POR SU CONSTANTE APOYO Y CARIÑO.

A JORGE ARTURO POR SU AYUDA Y POR TODO LO QUE REPRESENTA
EN MI VIDA.

A MI ASESOR:

M.V.Z. REYNALDO MORENO DIAZ

A MI H. JURADO.

M.V.Z. HEDBERTO RUIZ SKEWS

M.V.Z. JOSE LOPEZ ALVAREZ

M.V.Z. JOSE LUIS LAPARRA VEGA.

M.V.Z. CARLOS LOPEZ COELLO.

M.V.Z. RAMON GASQUE GOMEZ.

AL DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL : AVES, DE LA FACULTAD
DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DONDE SE REALIZO ESTE
TRABAJO.

AL INSTITUTO DE FISICA, Y EN ESPECIAL AL SR. ANIBAL DE LA
PIEDAD, Y A JOSE ANTONIO AZAMAR.

POR SU AYUDA DESINTERESADA PARA LA REALIZACION DE ESTA TESIS

A TODOS MIS AMIGOS DE LA ESCUELA.

POR TODOS ESOS RATOS TAN INOLVIDABLES DE MI VIDA.

" EFECTO DE LA IRRADIACION GAMMA (^{60}CO) SOBRE
LA SEVERIDAD DE LAS LESIONES PRODUCIDAS
POR OOQUISTES DE EIMERIA TENELLA "

(1983)

I N D I C E

	Pag.
RESUMEN	4
INTRODUCCION	5
A) CALOR	6
B) CONGELACION	7
C) IRRADIACION	8
FINALIDAD DEL TRABAJO	10
MATERIAL Y METODOS	11
1.- POLLOS	11
2.- INOCULO	12
3.- IRRADIACION	12
4.- INOCULACION Y ESTUDIO POSTMORTEM	12
CUADRO 1.	13
5.- FORMACION DE NUEVOS GRUPOS	14
6.- CALIFICACION DE LAS LESIONES	15
RESULTADOS	16
CUADRO 2.	17
FIGURA 1.	18

DISCUSION	19
CONCLUSIONES	21
LITERATURA CITADA	22

EFFECTO DE LA IRRADIACION GAMMA (^{60}Co) SOBRE
LA SEVERIDAD DE LAS LESIONES PRODUCIDAS
POR OOQUISTES DE EIMERIA TENELLA.

AUTOR : MA. GUADALUPE MONTERRUBIO K.

ASESOR: REYNALDO MORENO DIAZ

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad estudiar el efecto de la irradiación Gamma ^{60}Co sobre ooquistes de Eimeria tenella y observar las repercusiones en generaciones posteriores. Para tal objeto se utilizaron 720 pollos de la estirpe Hy-line de 4 - semanas de edad divididas en 8 grupos de 10 pollos cada uno con tres repeticiones por grupo. A 7 grupos se administraron ooquistes irradiados con 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 Krads, quedando un grupo como testigo. Se observó en general, que a mayor irradiación sobre los ooquistes, el grado de lesión en los ciegos de - los pollos fue menor, sin embargo se observó una clara recuperación en la severidad de las lesiones inducidas por las cepas -- irradiadas en las descendencia. En los pollos inoculados con - los ooquistes de la primera generación las lesiones se redujeron en un 47.83%, en la segunda sólo 15.36%, y en la tercera, los -- ooquistes recuperaron el grado de lesión producido originalmente.

I N T R O D U C C I O N

Existen diferentes especies de coccidias del género -- Eimeria que afectan a las aves tanto domésticas como silvestres (14, 15, 18).

Las especies de Eimeria consideradas como más patógenas- para las gallinas, por la localización tisular de su segunda ge- neración de esquizontes, y la gravedad de las lesiones produci- das son: E. tenella, E. necatrix, E. maxima, E. brunetti y -- E. acervulina (6, 7).

Dentro de estas especies, se han encontrado cepas que en forma natural tienen un menor grado de patogenicidad, aunque no el suficiente para producir en las aves inmunidad sin lesiones: es por ello que se han realizado varias investigaciones sometien- do oocistos a factores tanto físicos como químicos tratando de disminuir dicho grado de patogenicidad, con el objeto de po- der utilizar posteriormente tales oocistos en programas de inmu- nización de aves explotadas comercialmente (8, 11, 12, 13, 20).

Entre estos métodos se encuentran los siguientes:

A) CALOR.-

Con relación a este punto se han realizado varias in-vestigaciones donde se compara el efecto de la temperatura en las coccidias; a temperaturas de 24.5 a 35°C por 2 a 6 días y después administradas a pollos susceptibles, se observó una disminución en la gravedad de la coccidiosis, midiéndose por el grado de le-SIONES producidas, cantidad de oquistes en las heces, lectura -- del hematocrito y por el porcentaje de mortalidad (22).

Sin embargo en contraposición a éstos resultados, otros investigadores no encontraron ninguna disminución en la infección al someter previamente coccidias a temperaturas de 32°C por 24 hr (2).

En otro trabajo, sometiendo oquistes de Eimeria ninae-khlymovae, E. parva, E. arlorngi y E. faurei, de rata, a tempera turas de 40°C a 50°C por 4:00 hr., de 60°C por 2:30 hr., y de 70°C por 30 minutos se encontró que éstas tenían la capacidad de sobre vivir y esporular, además de producir una infección similar a la producida por coccidias no expuestas a calor (21).

B) CONGELACION.-

En uno de los estudios sobre este tema, se emplearon oocistos esporulados de Eimeria melagrimitis de guajolote, y Eimeria tenella de pollo, depositándose en un medio con 7 % de dimetil sulfóxido y congelados en vapor de nitrógeno líquido a -80°C , bajando 1°C por minuto. Después de mantenerse así por 4 meses, se descongelaron e inocularon ambas especies a guajolotes y gallinas, produciéndose una infección, con lesiones menores a las producidas por oocistos no congelados (9).

En otra investigación (10) se sometieron muestras de oocistos esporulados de Eimeria perforans, E. media, E. magna y E. irresidua, de conejos, suspendidas en una solución de dicromato de potasio al 2 %, a temperaturas de -10°C , -5°C , 2°C , -5°C y 8°C . Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los oocistos esporulados y congelados a -10°C , permanecieron infectantes por 60 días, después de su descongelación. Los oocistos no esporulados congelados a -5°C por 9 semanas, perdieron su viabilidad 6 meses después de su descongelación, en tanto que los esporulados sometidos a igual temperatura y tiempo fueron viables hasta 2 años después de su descongelación y en las muestras mantenidas a 2°C o más, por 9 semanas, algunos de los oocistos fueron capaces de esporular y permanecer infectantes por 2 años, produciendo infecciones similares a los oocistos mantenidos en óptimas condiciones (10).

C) IRRADIACION.-

Se ha empleado la irradiación con rayos X y γ para tratar de reducir el grado de patogenicidad de las Eimerias, habiéndose obtenido con estos últimos, resultados bastante prometedores.

En uno de los trabajos utilizando irradiación Gamma, sobre ooquistes de E. necatrix, se observó que los expuestos a 200 Krads (Kr) o más, no esporularon, en tanto que los irradiados con 10 a 150 Kr, sufrieron una disminución progresiva en su esporulación (16).

Se ha encontrado que las irradiaciones afectan el protoplasma del ooquiste formándose masas desiguales y granulaciones(4). El incremento en la intensidad de irradiación en ooquistes esporulados da como resultado una disminución progresiva en la severidad de la infección en los pollos y sus efectos como la mortalidad, la producción de ooquistes totales y la inducción de inmunidad. Al respecto se ha observado que la infección producida por 1000 ooquistes no irradiados es comparable a la producida por 50 000 irradiados con 25 Kr (4). La severidad de la infección obtenida con 20 000 ooquistes sin irradiar se asemeja a la producida por 50 000 irradiados con 2.5 Kr, concluyéndose que la irradiación disminuye la infectividad de los esporozoositos (4).

En otra investigación en donde se utilizaron ooquistes de Eimeria nieshulzi de rata irradiados con 15, 30 y 60 Kr, y sometidos simultáneamente a 35°C, 40°C y 45°C de temperatura - se observó que a medida que la irradiación y temperatura aumentaban el grado de patogenicidad de las coccidias disminuía (5).

Trabajando con E. acervulina se encontró que las mejores inmunizaciones se obtuvieron exponiendo los ooquistes a 9.1 - 13.7 Kr; irradiaciones superiores a 16 Kr mataron al parásito - en tanto que 7 o menos Kr, no produjeron ningún efecto (1).

En otro estudio (11), donde se utilizaron E. bovis y - E. zurnii irradiados con 10, 50, 75, 100 y 200 Kr, se observó - que los ooquistes tratados con 10 Kr, produjeron iguales lesiones que coccidias no expuestas, en tanto que con 50 Kr, produjeron infección moderada, y con 75 Kr o más no causaron coccidiosis. Posteriormente se observó que animales a los que se les suministró coccidias irradiadas a baja intensidad fueron inmunes a una nueva exposición, en comparación con aquellos inoculados con coccidias irradiadas con una intensidad mayor (11).

Asimismo, se llegó a conclusiones similares cuando se utilizaron ooquistes de E. tenella, E. acervulina, E. necatrix, -- E. brunetti, irradiados con diferente intensidad (1, 3, 4, 19, 20).

Con relación a lo antes expuesto el presente trabajo tiene por finalidad:

- Conocer el efecto sobre la severidad de las lesiones que producen diferentes niveles de irradiación sobre una población de oocistos de Eimeria tenella.

- Investigar si el grado de lesión producido por las coccidias, en los ciegos, disminuye al ser irradiadas y si esta propiedad es permanente y si se transmite a su descendencia .

MATERIAL Y METODOS :

El presente trabajo se llevó acabo en el Departamento de Producción Animal: Aves, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, con la colaboración del Instituto de Física de la - Universidad Nacional Autónoma de México.

1.- POLLOS.-

Se utilizaron 240 pollos machos de la estirpe Hy-line de 4 semanas de edad, adquiridos desde un día, de una empresa comercial. Estos fueron alojados en unidades de aislamiento con -- ambiente controlado, en criadoras de 90 cm de largo y 60 cm de - ancho y 30 c, de alto ; tanto el equipo utilizado como el local fueron previamente fumigados con formaldehido al 39% y permanganato de potasio a la dosis de 12 ml y 6 g, respectivamente por - metro cúbico, en estos locales fueron mantenidos los pollos desde un día de edad, hasta la cuarta semana, en la que se trasladaron a una unidad de exposición, tomando las medidas sanitarias uti-lizadas anteriormente. Se formaron 8 grupos de 10 pollos cada - uno con tres repeticiones por grupo, recibiendo agua y alimento* de iniciación sin coccidiostato ad libitum desde su nacimiento - hasta el sacrificio.

* Elaborado en la planta de alimentos de la granja Experimental Avícola, propiedad de la Facultad de Medicina Veterinaria Y Zootecnia.

2.- INOCULO.-

Se trabajó con una cepa de E. tenella obtenida de un -- brote de campo producido en el Ajusco, Cd. de México, la cual se mantuvo fresca y puesta a esporular en una solución de dicromato de potasio al 2 %,

3.- IRRADIACION.-

La cepa de Eimeria, suspendida en dicromato de potasio -- en tubos de rosca con tapón de baquelita de 13 x 100 ml, se ex-puso a los rayos gamma, empleando como irradiador una Unidad -- Gamma-cell - 200 **, la cual utiliza ^{60}Co , como fuente de radiación. Los inóculos fueron irradiados con 5, 10, 15, 20, 25, 30 ó 35 Krads de intensidad (Cuadro 1).

4.- INOCULACION Y ESTUDIO POSTMORTEM.

Las aves fueron inoculadas por vía oral con una dosis de 100 000 ooquistes esporulados e irradiados a diferentes dosis -

** Fabricado por Fabrimex, S.A. Toluca, México.

CUADRO . . 1

NIVELES DE IRRADIACION GAMMA ⁶⁰CO APLICADOS SOBRE

OOQUISTES ESPORULADOS DE EIMERIA TENELLA

Grupos	1	2	3	4	5	6	7	8
Niveles de Irradiación (KR)**	0	5	10	15	20	25	30	35
Tiempo de Irradiación	0	5'.16"	10'.31"	15'.46"	21'.2"	26'.17"	31'.33"	36'.48"

**(Kr) Krads

por grupo, a la cuarta semana de edad. Se procedió a sacrificar a los pollos de cada grupo al 7^o día después de la infección, para calificar las lesiones producidas por las coccidias de acuerdo a la escala de Johnson y Reid (17). Se hizo un raspado de los ciegos, y el contenido de estos se suspendió en una solución acuosa de dicromato de potasio al 2 % y se dejó esporular. Se hizo un recuento de las coccidias esporuladas por ml.

5.- FORMACION DE NUEVOS GRUPOS.-

Una vez esporuladas las Eimerias de la primera inoculación se formaron otra vez 8 grupos de 10 pollos cada uno con tres repeticiones por grupo, y se inocularon de la misma forma ya descrita, y con la misma cantidad de ooquistes esporulados por pollo.

Se procedió a sacrificar a todos los pollos al 7^o día después de inoculados y se observaron y calificaron las lesiones producidas de acuerdo a la escala utilizada anteriormente.

Asimismo se recolectó el contenido cecal conteniendo los ooquistes y se dejó esporular en la misma forma ya descrita.

Finalmente se procedió a formar por tercera vez igual número de grupos, inoculándolos con la misma cantidad de ooquistes recuperados de la segunda inoculación.

Se sacrificaron y calificaron las lesiones encontradas en los pollos, en la misma forma ya mencionada anteriormente.

6.- CALIFICACION DE LAS LESIONES.

Para calificar el grado de las lesiones producidas con cada generación se utilizó el siguiente criterio: El número de pollos que desarrolló las lesiones se multiplicó por el grado de lesión obtenida, lográndose así una puntuación para cada lesión, y al final sumando cada una de éstas se obtuvo la calificación de cada grupo (20).

R E S U L T A D O S

Los resultados se muestran en el Cuadro 2
y en la Figura 1.

CUADRO. 2

EFFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE IRRADIACION GAMMA SOBRE LAS LESIONES PRODUCIDAS POR LA 1^a, 2^a y 3^a GENERACION DE OOQUISTES IRRADIADOS CON 5,10, 15, 20, 25, 30 Y 35 KRADS.

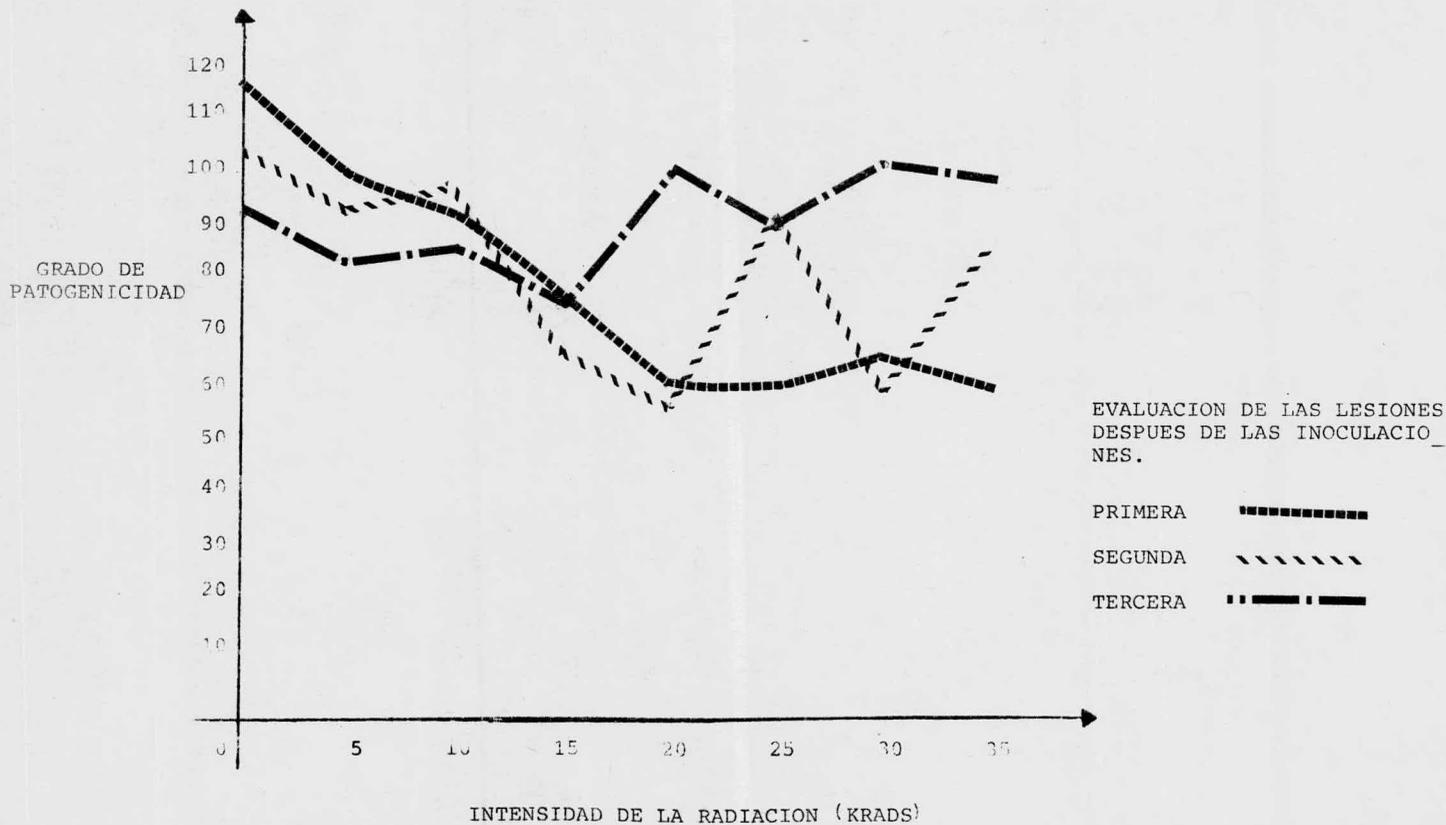
GRUPOS *	IRRADIACION 60CO KRADS	PRIMERA GENERACION (PRIMERA INOCULACION)	SEGUNDA GENERACION (SEGUNDA INOCULACION)	TERCERA GENERACION (TERCERA INOCULACION)
1	0	** 117 3/3+, 27/4+	** 104 2/1+, 1/2+, 8/3+, 19/4+	** 92 28/3+, 2/4+
2	5	** 101 1/2+, 17/3+, 12/4+	** 94 6/2+, 14/3+, 10/4+	** 84 9/2+, 18/3+, 3/4+
3	10	** 93 6/2+, 15/3+, 9/4+,	** 98 7/2+, 8/3+, 15/4+	** 85 5/2+, 25/3+
4	15	** 78 4/1+, 12/2+, 6/3+, 8/4+	**69 5/1+, 14/2+, 8/3+, 3/4+	** 77 13/2+, 17/3+
5	20	** 61 9/1+, 14/2+, 4/3+, 3/4+	** 59 8/1+, 15/2+, 7/3+	** 100 20/3+, 10/4+
6	25	** 62 7/1+, 15/2+, 7/3+, 1/4+	** 94 6/2+, 14/3+, 10/4+	** 93 27/3+, 3/4+
7	30	**68 7/1+, 12/2+, 7/3+, 4/4+	** 62 3/1+, 22/2+, 5/3+	** 103 2/2+, 13/3+, 15/4+
8	35	** 61 10/1+, 12/2+, 5/3+,3/4+	** 88 1/1+, 11/2+, 7/3+, 11/4+	** 100 20/3+, 10/4+

* Se inocularon 30 pollos por vía oral con 100 000 ooquistes irradiados con cada dosis. La calificación de las lesiones se obtuvo multiplicando el grado de lesion por el número de pollos que presentaron esa lesion. Se hicieron 2 inoculaciones en secuencia después de cosechar los ooquistes apartir de los animales inoculados.

** TOTAL de puntos obtenidos en la calificación de las lesiones. La notación inferior indica el número de pollos con lesiones de 1+, 2+, 3+ y 4+.

FIGURA. 1

EFFECTO DE DIFERENTES DOSIS DE IRRADIACION GAMMA SOBRE LAS LESIONES PRODUCIDAS POR LA 1^a, 2^a y 3^a GENERACION DE OOQUISTES IRRADIADOS CON 5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 KRADS.



DISCUSION

El presente trabajo tuvo como finalidad estudiar el efecto sobre la severidad de las lesiones que producen diferentes niveles de irradiación Gamma ^{60}Co sobre ooquistes de Eimeria tenella y observar las repercusiones en generaciones posteriores.

En la primera inoculación (primera generación) se observó una disminución del grado de lesión provocada en los ciegos de los pollos debida a la administración de ooquistes irradiados, lo cual fue directamente proporcional a la dosis recibida de 5 a 20 Krads, aunque con 20, 25, 30 y 35 Kr, se produjeron lesiones con la misma gravedad (Fig. 1). Sin embargo este comportamiento no fue observado en los grupos a los que se les aplicó la segunda inoculación (segunda generación de ooquistes recolectados); en este caso las lesiones variaron de acuerdo a la irradiación recibida sólo hasta 20 Kr, y a partir de esta dosis se produjo un mayor grado de lesión que en los grupos anteriores. Por otra parte, en la tercera inoculación (tercera generación) el grado de lesiones fue mayor que en los pollos inoculados con la primera y segunda generaciones.

Esto mismo fue encontrado por otros autores los cuales suponen que las poblaciones de coccidias irradiadas fueron recuperando su patogenicidad, sin saber en realidad cual es el efecto verdadero en cada una de ellas (1, 3, 4 , 11, 16).

Para poder obtener conclusiones válidas con respecto al efecto de la irradiación a nivel celular o genético será necesario trabajar con clones derivados de coccidias irradiadas. La inmunización de aves con clones obtenidos de esta manera quizá resulte en una respuesta más homogénea, en cuanto a la capacidad reproductiva e inductora de lesiones, por parte de las coccidias; esto permitiría seleccionar al clon más adecuado con fines de -- inmunización.

Asimismo se sugiere que si se deben utilizar inóculos de coccidias a partir de un brote de campo, para inmunizar a una parvada, sólo se utilice el inóculo irradiado y no la descendencia generada después de la inoculación, ya que esta última será capaz de producir lesiones de mayor gravedad.

Algunos investigadores han observado que dosis de 16 Kr, en adelante impiden la reproducción de las eimerias (1). Con las dosis de irradiación empleadas en este trabajo no se impidió la capacidad de las coccidias para inducir lesiones en los pollos inoculados, por lo que sería conveniente estudiar el efecto de otras dosis de irradiación sobre la capacidad de reproducción de estas eimerias.

CONCLUSIONES

- 1.- La irradiación sobre ooquistes esporulados de E. tenella con rayos Gamma ^{60}Co produjo una disminución en el grado de lesión producido sobre los ciegos de los pollos.
- 2.- La disminución del grado de lesión fue directamente proporcional a la dosis de irradiación proporcionada.
- 3.- El efecto de los rayos Gamma ^{60}Co sobre ooquistes esporulados de E. tenella logró reducir hasta un 47.83% el grado de lesión inicial, lo cual sólo se mantuvo en la primera inoculación (primera generación) ya que en la segunda sólo disminuyó un 15 % y en la tercera inoculación las lesiones fueron de una severidad comparable a la observada en el grupo testigo.

LITERATURA CITADA

- 1.- ALI, N.A.; BINNERTS, W.T.; KLIMES, B. : Immunization by irradiated Eimeria acervulina. J. Protozool., 19: 177-180 (1972).
- 2.- ANDERSON, W.I.; REID, W.M.; JOHNSON, J.K. : Effects of high environmental temperatures on cecal coccidiosis. Poult.Sci., 55: 1429-1435 (1976).
- 3.- BAJWA, R.S.; GILL, B.S. : Effect of irradiation (gamma-rays) on the biology of Eimeria tenella oocysts. Ann. Rech. Vet., 8: 181-186 (1977).
- 4.- BAJWA, R.S.; GILL, B.S.: Effect of irradiation (gamma-rays) on oocyst of Eimeria tenella. Annals de la Societé Belge de Médecine Tropicale., 55: 31-36 (1975).
- 5.- CONDER, G.A.; and DONALD, W.D.: The immunizing potential of sporulated oocysts of Eimeria nieschulzi exposed to heat -- and ⁶⁰Co. Gamma-radiation. J. Parasitol., 63: 206-209 (1977).
- 6.- DATUS, M.H.; and LONG, P.L. : The coccidia. University Park Press, Bertlerworths, Baltimore, (1973).

- 7.- DAVIES, D.F.M.; JOYNER, R.P. ; and KENDALL, F. : Coccidiosis.
Oliver and Boyd, Edimburg and London, (1963).
- 8.- DORAN, D.J.; VETTERLING, J.M.; and AUGUSTINE, P.C. :
E. tenella and in vivo and in vitro comparison of the
Wisconsin, Wybrdrge and Bettsville strains. Proc. Helminthol.
Soc. Wash. , 41 : 77-80 (1974).
- 9.- DORAN, D.J.; and VETTERLING, J.M. : Infectivity of two
species of poultry coccidia after freezing and storage in
liquid nitrogen vapor. Proc. Helminthol. Soc. Wash., 36:
30-33 (1964).
- 10.- FRANCALANCI, G. : Effect of low temperature on sporulation
and survival of the oocysts of Eimeria perforans, media,
magna and irresidua. Nuova Vet., 44 : 256-263 (1968).
Vet. Bull., 39: (1964).
- 11.- FITZGERALD, P.R. : Effect of ionizing radiation from Cobalt 60
on oocysts of Eimeria bovis. J. Parasitol., 54: 233-240 (1968).
- 12.- FRENCH, J.E., and SADLER, C.R. : Effect of high temperatures
on the resistance of young chickens to coccidiosis (Eimeria).
Am. Soc. Parasitol., 43: 44-45 (1968).

- 13.- GHORI, H.M. : Comparative pathogenicity of three strains of Eimeria maxima. Diss. Abst., 38: 513 (1977).
- 14.- GORDON, R.F. : Enfermedades de las Aves. Editorial el Manual Moderno, S.A. México 11, D.F. (1980).
- 15.- HOFSTAD, M.S.; CALNEK, B.W.; HELMBOLDT, C.F.; REID, W.M.; YODER, H.W.Jr. : Diseases of Poultry. Editorial Board for the American Association of Avian Pathologists (1978).
- 16.- JASMER, S.; and GILL, B.S. : Effect of gamma-irradiation on oocysts on Eimeria necatrix. Parasitology., 71: 117-124 (1975).
- 17.- JOHNSON, J. and REID, W.M. : Anticoccidial drugs lesion techniques in battery and floor pen experiments with chick en. Exp. Parasitol., 28: 30-36 (1970).
- 18.- MANNINGER, R.; MOESY, J.: Patologia y Terapeutica especiales de los animales domesticos. Editorial Labor, S.A. Barcelona 15 (1973).
- 19.- MONSESIJAN, M.; SOKOLIC, A.; NAZIK, A.A.; ZABE, T.; GHANNOUM, B.M. : Immunization of chickens with irradiated Eimeria oocysts. Acta. Vet. Yug., 25: 255-259 (1975).

- 20.- MORENO, D.R. : Determinación del grado de patogenicidad de algunas cepas de Eimeria aisladas de pollos en México. Veterinaria Mex., 11: 1-7 (1980).
- 21.- RAKHMATULLINA, N.K.; and SVANBAEV, A.K. : Effect of high temperatures on the oocysts of sheep coccidial. Ser. Biol., 5 : 47-49 (1969). Vet. Bull., 40: 2219 (1970).
- 22.- REID, W.M.; HINES, T.K.; JOHNSON, J.; and STINO, K.R. : Coccidiosis. Effects of high environmental temperatures on anticoccidial protection. Poult. Sci., 55: 1436-1441 (1976).
- 23.- SOKOLIC, A.; MONSESIJAN, M.; ALI, N.A.; TENIELIAN, Z. : Immunization of chickens with ⁶⁰Co. irradiated Eimeria tenella. Acta. Vet. Yug., 25 : 53-57 (1975).

