



Dinámica de infección por *Cystoisospora suis* (*Isospora suis*) en una granja piloto ubicada en el estado Carabobo, Venezuela



Juan Carlos Pinilla León^{a*}

Natalia Da Silva Borges^b

^a Universidad de Santander, Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias, Programa de Medicina Veterinaria, Campus de Bucaramanga, Lagos de Cacique, Bucaramanga, Santander, Colombia.

^b Universidad Rómulo Gallegos, Facultad de Agronomía, Departamento de Producción Animal, San Juan de Los Morros, Venezuela.

* Autor para correspondencia: j.pinilla@mail.udes.edu.co, jcpinilla@hotmail.com

Resumen:

La investigación se realizó en Venezuela desde septiembre de 2015 hasta agosto de 2016 con la finalidad de determinar la dinámica de la infección por *Cystoisospora suis* en una granja piloto. Para la determinación parasitaria se colectaron 480 muestras fecales de camadas, distribuidas en cuatro grupos de edades: grupo 1 (1-7 días de edad, 20 %), grupo 2 (8-14 días, 47 %), grupo 3 (15-21 días, 23 %) y grupo 4 (22-28 días, 10 %). Todas las muestras se cultivaron en dicromato de potasio al 2.5% y posteriormente se procesaron con una técnica de centrifugación-flotación. Los resultados señalan que *C. suis* se encontró presente durante todo el período de estudio con 52.08 % de prevalencia, y presentando mayor frecuencia en lechones con dos semanas de vida. Posiblemente, las condiciones de manejo y salubridad de la granja favorecen los mecanismos de sobrevivencia y proliferación del parásito. Con respecto al mes de muestreo, no se encontró significancia ($P>0.05$) entre las constantes meteorológicas y la prevalencia por *C. suis*, lo que podría indicar que el ambiente no tuvo ningún efecto sobre la presencia del protozooario. Los datos recolectados en la encuesta

epidemiológica se analizaron mediante una prueba de correlación de Spearman, y se determinó asociación significativa ($P < 0.05$) entre la prevalencia y la asistencia veterinaria, protocolo de desinfección 3 y empleo de Baycox al 5%. Se concluye que las condiciones meteorológicas registradas son óptimas para que ocurra el proceso de esporulación, y por tanto, para mantener viables ooquistes de *C. suis* durante todo el año.

Palabras clave: Granjas, Porcinos, Protozoario, Venezuela.

Recibido: 10/05/2017

Aceptado: 01/02/2018

Cystoisospora suis es un protozoario que pertenece al reino Chromista, Infraphylum Apicomplexa, Subclase Coccidea, Orden Eimerida^(1,2), y es considerado uno de los enterococcidios más importantes que afectan al cerdo, y agente causal de la cystoisosporosis neonatal porcina^(3,4). Los animales con *C. suis* desarrollan una diarrea de color amarillenta a partir de la segunda semana de edad, que inicialmente es pastosa para hacerse fluida a los 2 a 3 días^(3,4). Con respecto a la prevalencia, en granjas porcinas de Alemania se determinó 62.2 y 53.8 % de prevalencia en granjas y camadas, respectivamente^(5,6), así como 42.5 % de prevalencia en lechones criados en granjas intensivas⁽⁷⁾. Así mismo, en Polonia se demostró 27.8 % de prevalencia en camadas y 66.7 % en granjas⁽⁸⁾, mientras que en República Checa se determinó 21.8 % en camadas⁽⁹⁾. En Venezuela, se determinó que la prevalencia de *C. suis* en lechones y cerdos de 0 a 13 semanas de edad fue 21.8 y 26 %, respectivamente⁽¹⁰⁾, mientras que se encontró 75 % de prevalencia en granjas ubicadas en el estado Carabobo⁽¹¹⁾. Con respecto a la edad, se ha determinado mayor prevalencia en camadas con dos semanas de vida⁽¹²⁾, mientras que otros autores señalan mayor prevalencia en camadas de tres y cuatro semanas de edad⁽¹³⁾. Referente a la época del año, algunos autores^(5,14) no señalaron efecto estadísticamente significativo sobre la presencia de *C. suis* en lechones; sin embargo, Meyer *et al*⁽⁶⁾ demostraron en granjas de Alemania mayor incidencia de diarrea por *C. suis* en verano y otoño (66.3 y 61 %, respectivamente). Existe un impacto estacional sobre la incidencia de *C. suis*, ya que la esporulación se favorece en ambientes calientes (32 a 35 °C) que son las condiciones normales de las unidades paritorias⁽¹³⁾. En Venezuela, se encontraron diferencias significativas entre la presencia del parásito con respecto al mes de muestreo⁽¹⁵⁾. Probablemente, los meses de mayor temperatura y humedad favorecen la supervivencia del parásito en las parideras. Con respecto al control sanitario, la higiene y limpieza de las unidades paritorias podría minimizar la propagación del parásito dentro de la camada y por lo tanto disminuir el desarrollo de diarreas⁽¹⁶⁾, y probablemente la asociación entre algunos factores higiénicos y sanitarios pueden minimizar la presencia de *C. suis* en la granjas⁽¹⁷⁾. El municipio Carlos Arvelo del estado Carabobo es una región agrícola y pecuaria por

excelencia, donde se encuentra aproximadamente el 40 % del total de granjas intensivas del estado Carabobo, lo cual hace una región importante en la producción porcícola Venezolana⁽¹⁸⁾. Por ello, en el presente estudio se planteó como objetivo evaluar la dinámica de infección de *C. suis* en lechones lactantes criados en una granja piloto durante un período de 12 meses.

El estudio se realizó en una granja piloto ubicada en la parroquia Guigue, municipio Carlos Arvelo del estado Carabobo (10°11'35"N - 67°58'48"O); ubicada a 500 msnm y con precipitaciones anuales de 1,150 mm, con lluvias de gran intensidad entre junio a octubre, con mayor intensidad entre agosto y octubre, donde comienza a experimentar descenso en los meses de noviembre y diciembre, y a partir de esta fecha se inicia la temporada seca que se extiende hasta finales del mes de mayo⁽¹⁹⁾. La granja se caracteriza por ser una explotación intensiva en flujo continuo y con antecedentes de diarrea neonatal en maternidad. Tiene un tamaño de 3,000 madres en producción y un total de 25,000 animales. El tipo de animal observado pertenece a mestizos de líneas mejoradoras, y son alimentados con raciones balanceadas, formuladas en plantas de alimentos próximas a la unidad de producción. El destete se realiza a los 21 días, en promedio. Los lechones son tratados con Toltrazuril al 2.5 y 5% entre los 3 y 5 días de edad; sin embargo, se observó mucha interrupción en el tratamiento anticoccidial durante el tiempo del estudio. Después de cada destete, los pisos de paleta plástica son remojados y tratados con glutaraldehído al 5% durante 2 h.

Previo al estudio, se condujo una prueba piloto para determinar la prevalencia de *C. suis* en la granja. Se examinó el 15 % (50/325) de camadas de diferentes edades con los métodos descritos abajo, obteniéndose una prevalencia de 80 % (40/50). Con esta cifra obtenida, se determinó el tamaño muestral (n) empleando la fórmula con prevalencia conocida en poblaciones finitas⁽²⁰⁾:

$$n = N * Z\alpha^2 (p)(q) / d^2 (N - 1) + Z\alpha^2 (p)(q)$$

Donde:

N= población (camadas con diarrea);

Z α^2 = 1.96² (nivel de confianza del 95%);

p= prevalencia esperada (80%, según estudio piloto);

q: 1 – p;

d= error máximo admisible (5%).

Durante los meses de septiembre de 2015 hasta agosto de 2016 se colectaron 480 muestras fecales de lechones lactantes, con un promedio de 40 muestras mensuales distribuidas en cuatro grupos de edades resultantes del estudio piloto: grupo 1 (1-7 días de edad, 20 %), grupo 2 (8-14 días, 47 %), grupo 3 (15-21 días, 23 %) y grupo 4 (22-28 días, 10 %). De cada camada seleccionada se tomaron de 4 a 5 lechones con la finalidad de hacer un pool de la

muestra. A cada lechón se le introdujo un hisopo por vía rectal con el propósito de estimular la defecación y coleccionar las deyecciones en tubos de ensayo previamente identificados. Las muestras se introdujeron en una cava refrigerada a 10 °C para ser trasladadas a la unidad de investigación en parasitología de la Universidad “Rómulo Gallegos”, estado Guárico, Venezuela, donde se conservaron en refrigeración a 9 °C hasta su procesamiento.

En cada muestreo se aplicó una encuesta al propietario de la granja con la finalidad de obtener información referente a la asistencia veterinaria, protocolos de limpieza y desinfección, así como tratamientos anticoccidiales empleados, entre otros.

Con respecto a la asistencia veterinaria, se categorizó en ausente (1) y presente (2). Los protocolos de limpieza de las jaulas paritorias se clasificaron en tres tipos: lavado o remojado con agua de chorro (1), lavado con agua de chorro más desinfección con solución de glutaraldehído al 5%, empleando una bomba de espalda de 20 L (2), y lavado con agua de chorro más empleo de bomba de hidrojete (bomba para expulsión de agua a 70°C y presión de 3.300 lbs/pulg²) más desinfección con solución de glutaraldehído al 5% (3). Con relación al uso de anticoccidiales por vía oral como tratamiento preventivo, se clasificaron en: no emplea (1), emplea 2 ml/lechón de Baycox al 2.5% (2) y emplea 1 ml/lechón de Baycox al 5% (3).

Los datos meteorológicos (temperaturas, humedad relativa y precipitaciones) se tomaron de los registros del anuario de la estación Meteorológica El Pao – Valencia, estado Carabobo, Venezuela⁽¹⁹⁾. La estación se encuentra en latitud: 10.16, longitud: - 67.93. altitud: 430 m.

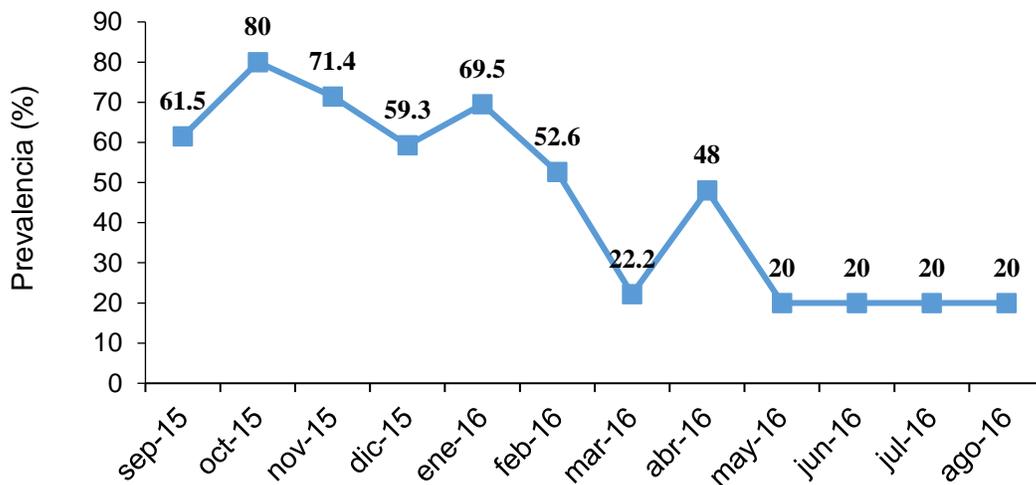
Todas las muestras se cultivaron a temperatura ambiente en cápsulas de Petri utilizando 20 ml de una solución de dicromato de potasio al 2.5% durante 24 h (pool de cada camada)⁽²¹⁾. Transcurrido ese tiempo, se empleó una técnica de centrifugación – flotación y McMaster, utilizando una solución saturada de NaCl enriquecida con solución azucarada a temperatura ambiente y gravedad específica de 1.28 (1 L de solución saturada de NaCl + 500 g de azúcar)⁽²²⁾. En aquellas muestras donde la grasa dificultaba observar ooquistes de *C. suis*, se empleó una técnica de sedimentación con PBS- éter⁽²³⁾. La visualización de ooquistes se hizo con microscopio óptico de luz utilizando magnificación de 10 y 40X.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante estadísticos descriptivos y test de Ji cuadrada para determinar diferencias estadísticas. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para determinar asociaciones entre prevalencia y constantes meteorológicas. Para los cálculos se utilizó el programa estadístico Statistix⁽²⁴⁾.

Se determinó 52.08 % (250/480) de prevalencia en lechones lactantes durante el período de estudio. En la Figura 1, se muestra la dinámica de infección de *Cystoisospora suis* en lechones lactantes durante todo el año. Estos resultados se analizaron mediante un test de asociación (Ji – cuadrada de Pearson), donde se encontró asociación estadística (X^2 : 81.36; $P < 0.05$) entre la prevalencia de *C. suis* con respecto al mes de muestreo, lo que supone un

efecto estacional sobre la presencia del protozooario. Los resultados de prevalencia durante el periodo de estudio coinciden con lo publicado por otros investigadores^(5,6,7) quienes determinaron valores altos de prevalencia en lechones lactantes; sin embargo, los resultados difieren con lo señalado en otros estudios⁽⁸⁻¹¹⁾ donde determinaron valores inferiores de prevalencia. Probablemente, las condiciones de manejo y salubridad de la granja favorecen los mecanismos de sobrevivencia y proliferación del parásito.

Figura 1: Dinámica de prevalencia de *Cystoisospora suis* en lechones lactantes de diferentes edades durante el periodo de estudio



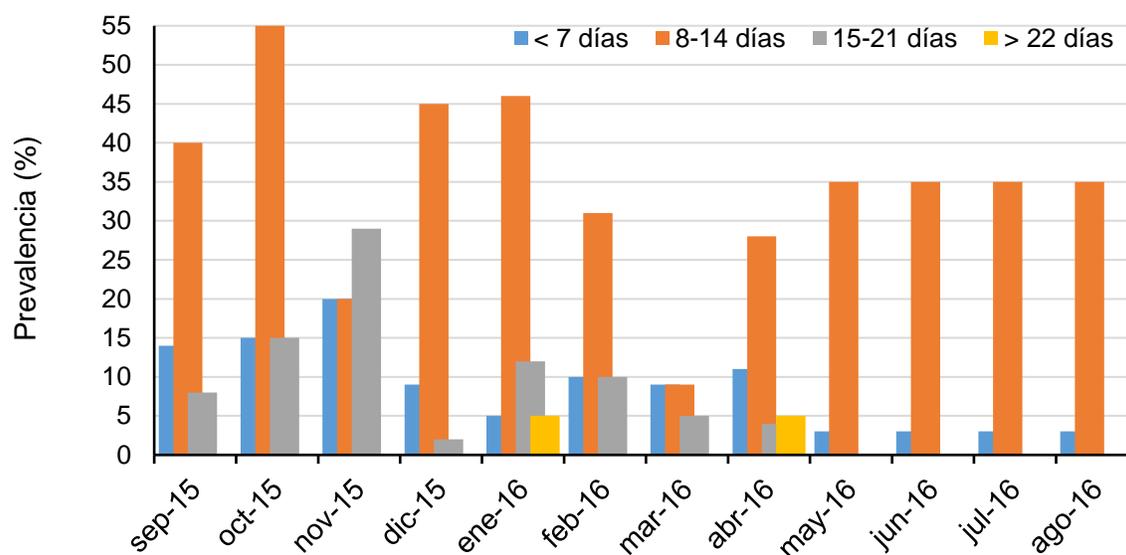
$P < 0.05$; X_2 : 81.36

Durante el primer semestre del estudio, los valores de prevalencia se encontraron por encima de la media anual (52.08 %), mientras que en el segundo semestre se registró un descenso hasta 22.2 % en el mes de marzo, y un aumento a 48 % en abril, para finalmente mantener niveles constantes de 40 % en los últimos cuatro meses del estudio. Probablemente, la prevalencia aumenta en aquellos meses donde las condiciones climatológicas favorecen la esporulación de ooquistes. Estos resultados difieren con lo señalado por otros autores, quienes no encontraron efecto estacional^(5,14); sin embargo, otros autores reportaron diferencias estadísticas estacionales^(6,13,15), sobre todo en aquellos meses con altas temperaturas.

En la Figura 2, se muestra la dinámica de prevalencia por grupo de edad. El grupo 2 (8 a 14 días), mostró los mayores valores de prevalencia durante el período de estudio. El valor más alto se registró en octubre (55 %) y el más bajo en marzo (9.1 %), mientras que el grupo 4

(camadas > 22 días) resultó ser el menos prevalente a *C. suis*. Los grupos 1 y 3 mostraron diversos valores de prevalencia durante todo el estudio; sin embargo, los grupos 3 y 4 no mostraron excreción de ooquistes en los últimos cuatro meses del estudio.

Figura 2: Dinámica de prevalencia de *Cystoisospora suis* en camadas de diferentes edades

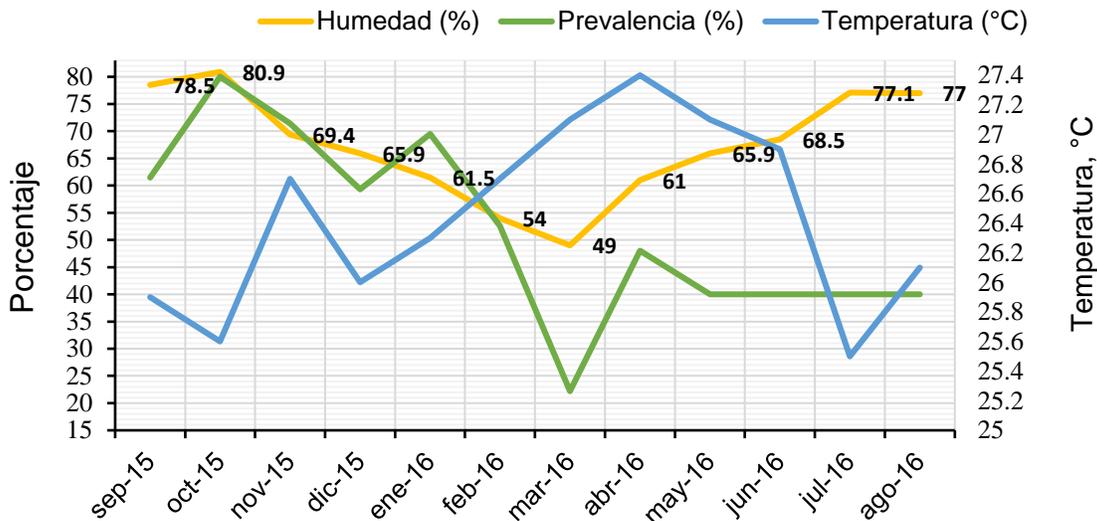


Los resultados obtenidos coinciden con lo señalado por otros autores, quienes determinaron mayores valores de prevalencia en las dos primeras semanas de vida, y podría deberse a la falta de un adecuado programa de profilaxis y control en la granja, lo que trae consigo mayor presión de infección en esta edad^(9,12); sin embargo, en otros estudios se determinó mayores tasas de prevalencia en camadas de 3 y 4 semanas de vida^(5,7,14). Dado que los lechones nacen con un sistema inmune inmaduro, la transferencia calostrual de anticuerpos y células inmunes parece ser un factor esencial para controlar las infecciones a esa edad. Sin embargo, aún no se entiende el papel de los anticuerpos específicos contra *C. suis* transferidos de las madres a los lechones y las posibles correlaciones entre los niveles de anticuerpos y la Cystoisosporosis⁽²⁵⁾. Shrestha *et al*⁽²⁶⁾ demostraron la presencia de anticuerpos en el calostro y la leche de cerdas infectadas experimentalmente antes del parto, ya que el efecto protector estuvo altamente correlacionado con los títulos de anticuerpos durante las primeras dos semanas de vida, lo que explicaría la baja prevalencia de *C. suis* en lechones con menos de una semana de edad.

En la Figura 3, se muestran los valores de temperatura, humedad y prevalencia durante los doce meses de estudio. La temperatura media anual fue de 26.3 °C, con lecturas muy bajas (20.2 °C) en el mes de diciembre, mientras que la lectura más alta se registró en abril (34.2 °C). La humedad relativa registró una media anual de 68.2 %, siendo marzo el que menor

porcentaje de humedad mostró (55.8 %), mientras que septiembre y octubre mostraron los mayores porcentajes de humedad. En relación a las precipitaciones, se registraron 552 mm en promedio, siendo noviembre y diciembre los de menor precipitación, mientras que enero a julio comprendió el período de mayor precipitación. Según los resultados obtenidos, la prevalencia disminuyó en los meses con menor humedad relativa; sin embargo, la curva de temperatura fue inversamente proporcional a los valores de prevalencia. Se podría inferir que a mayor precipitación y humedad, mayor sería la presencia del protozoario; sin embargo, los resultados no reflejan esto, ya que en los meses de menor precipitación (primeros cuatro meses del estudio) hubo mayor presencia de *C. suis*, lo que podría indicar que otros factores diferentes al clima estarían involucrados en el comportamiento del parásito. En Venezuela no existen altas variaciones climatológicas como en otras regiones del mundo, donde existen fluctuaciones estacionales muy marcadas que afectan la dinámica parasitaria; sin embargo, las constantes meteorológicas registradas en nuestro medio son óptimas para que ocurra el proceso de esporulación, y por tanto, mantener viables ooquistes de *C. suis* durante todo el año, y especialmente hasta la llegada de nuevos hospederos, quienes se encargarán de multiplicar y perpetuar el parásito dentro de la explotación, sobre todo cuando se encuentren vulnerables los mecanismos de bioseguridad.

Figura 3: Constantes meteorológicas y porcentaje de prevalencia de *Cystoisospora suis* durante el período del estudio



Fuente: Estación Meteorológica El Pao-Valencia (804720) SVVA. Latitud: 10.16. Longitud: - 67.93. Altitud: 430 m.

En el Cuadro 1, se muestran los coeficientes de correlación de Pearson (r) entre las constantes meteorológicas con los valores de prevalencia y nivel de infección obtenidos durante los doce meses. Según estos resultados, no se determinó significancia ($P>0.05$), lo que indica que no

hubo asociación entre las variables estudiadas, y por tal motivo se infiere que los factores ambientales no tuvieron ningún efecto sobre los valores de prevalencia y niveles de infección obtenidos en la granja piloto.

Cuadro 1: Correlación entre prevalencia y nivel de infección con parámetros meteorológicos (temperatura, humedad y precipitación)

	Temperatura	Humedad	Precipitación
Prevalencia	- 0.4	0.34	- 0.5
Nivel de infección	- 0.34	0.5	- 0.1

($P > 0.05$).

En el Cuadro 2 se muestran los datos recogidos de la encuesta aplicada (atención veterinaria, protocolos de lavado y desinfección, y tratamientos anticoccidiales). Esta información se analizó mediante una prueba de correlación con rangos de Spearman, y se determinó correlación negativa ($\rho = -0.9$; $P < 0.05$) entre la prevalencia y los protocolos de desinfección, lo que indica que la prevalencia disminuyó en la medida que se aplicó el protocolo N° 3 (lavado + bomba de hidrojete + desinfección). Igualmente, se determinó correlación negativa ($\rho = -0.65$; $P < 0.05$) entre prevalencia y empleo de Baycox al 5%, lo que sugiere que la prevalencia disminuyó cuando se empleó este fármaco. Con respecto a la asistencia veterinaria, se encontró correlación negativa ($\rho = -0.7$; $P < 0.05$), lo que sugiere que la prevalencia tendió a disminuir con la presencia del veterinario en la granja. El protocolo N° 3 (lavado normal + bomba de hidrojete + desinfección) aplicado a unidades paritorias con pisos de paleta plástica, así como la permanencia del Veterinario en la granja, y tratamiento con Baycox al 5%, son modalidades que estuvieron asociadas entre ellas y a su vez con el grupo de granjas que resultaron negativas a *C. suis*⁽¹⁷⁾. La asistencia veterinaria en la granja garantiza que se lleven a cabo efectivos programas sanitarios en granjas grandes, y de esta manera se controlan las enfermedades infecciosas del rebaño. El mecanismo de acción que tiene el glutaraldehído sobre formas evolutivas de *C. suis* no ha sido señalado, al menos en la literatura consultada. Sotiraki *et al*⁽¹⁶⁾ señalaron que el empleo de este desinfectante con buenos programas sanitarios pueden disminuir considerablemente el número de coccidias presentes en una explotación. Por otro lado, el empleo de agua caliente a presión sobre los pisos plásticos y su posterior remojo en soluciones desinfectantes, podrían disminuir considerablemente la presencia de ooquistes esporulados, para que cuando lleguen nuevas camadas, éstas encuentren un ambiente limpio y sin la presencia de ooquistes que puedan permanecer viables en la maternidad. En los programas de control y prevención de la cisticercosis en granjas porcinas venezolanas se debe considerar el empleo de buenas normas de higiene combinadas con un programa de saneamiento y desinfección con glutaraldehído que involucre el empleo de alta presión con agua caliente, así como remojo y

desinfección de paletas plásticas. De esta manera se minimizan las posibilidades de proliferación y diseminación del parásito dentro de las parideras, y por tanto disminuirían las diarreas asociadas a *C. suis*.

Cuadro 2: Prevalencia mensual y resultados recogidos de la encuesta

Mes	Asistencia veterinaria	Protocolos	Anticoccidial	Prevalencia (%)
Sep-15	1	1	2	61.5
Oct-15	1	1	1	80.0
Nov-15	1	1	1	71.4
Dic-15	1	2	1	59.3
Ene-16	2	1	2	69.5
Feb-16	2	2	2	52.6
Mar-16	2	3	3	22.2
Abr-16	2	2	2	48.0
May-16	2	2	2	20.0
Jun-16	2	2	2	20.0
Jul-16	2	2	2	20.0
Ago-16	2	2	2	20.0
Rho	-0.7 $P<0.05$	-0.9 $P<0.05$	-0.65 $P<0.05$	-

$P<0.05$ (asociación estadísticamente significativa).

Asistencia veterinaria: (1) ausente; (2) presente.

Protocolos: (1) lavado; (2) lavado + desinfección; (3) lavado + hidrojeteo + desinfección.

Anticoccidiales: (1) no emplea; (2) Baycox al 2.5%; (3) Baycox al 5%.

Los resultados obtenidos indicaron que *C. suis* se encontró presente durante todo el año, por tanto las condiciones climatológicas registradas son óptimas para que ocurra el proceso de esporulación, y por tanto, mantener viables ooquistes del protozooario en cerdos e instalaciones.

Agradecimientos

Al Programa de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias de la Universidad de Santander por su valiosa colaboración y apoyo en la ejecución de este trabajo.

Literatura citada:

1. Cazorla-Perfetti D. Sobre la nomenclatura taxonómica y sistemática de los Apicomplejos. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2017;34(2):351.
2. Ruggiero M, Gordon D, Orrell T, Bailly N, Bourgoin T, Brusca R. *et al.* A Higher level classification of all living organisms. PLoS ONE 2015;10(4):e0119248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119248>.
3. Lindsay D, Dubey J. Coccidia and other protozoa. In: Straw B, *et al* editors. Diseases of swine. 9th ed. Iowa, USA: Iowa State University Press; 2005:861-873.
4. Lindsay D, Blagburn B, Dubey J. Coccidia and other protozoa. In: Straw BE, *et al* editors. Diseases of swine. 8th ed. Iowa, USA: Iowa State University Press. Ames; 1999:655-660.
5. Otten A, Takla M, Dauschies A, Rommel M. The epizootiology and pathogenic significance of infections with *Isospora suis* in ten piglet production operations in Nordrhein-Westfalen. Berl Munch Tierarztl Wochenschr 1996;109(6-7):220-223.
6. Meyer C, Joachim A, Dauschies A. Occurrence of *Isospora suis* in larger piglet production units and on specialized piglet rearing farms. Vet Parasitol 1999;82:277-284.
7. Nistrath M, Takla M, Joachim A, Dauschies A. The role of *Isospora suis* as a pathogen in conventional piglet production in Germany. J Vet Med B 2002;49:176-180.
8. Karamon J, Ziomko I, Cencek T. Prevalence of *Isospora suis* and *Eimeria* spp. in suckling piglets and sows in Poland. Vet Parasitol 2007;147:171-175.
9. Hamadejova K, Vitovec J. Occurrence of the coccidium *Isospora suis* in piglets. Vet Med – Czech 2005;50(4):159-163.

10. Surumay Q, Moreno L. de, Morales G, Morales A de, Castillo L. Parasitosis diagnosticadas en el Instituto de Investigaciones Veterinarias período 1987 – 1992. *Vet Trop* 1994;19(1):63-75.
11. González, Y de W. Prevalencia de coccidias en suinos del estado Aragua y Municipio Diego Ibarra del estado Carabobo. *Vet Trop* 1993;18:45-57.
12. Sayd S, Kawazoe U. Experimental infection of swine by *Isoospora suis* Biester 1934 for species confirmation. *Mem Inst Oswaldo Cruz. Río de Janeiro* 1996;93(6):851-854.
13. Martineau GP, Castillo J. Epidemiological, clinical and controls investigations on field porcine coccidiosis: clinical, epidemiological and parasitological paradigms. *Parasitol Res* 2000;86:834-837.
14. Driesen SJ, Carland PG, Fahy VA. Studies on preweaning piglet diarrhea. *Aust Vet J* 1993;70(7):259-262.
15. Pinilla JC, Coronado A. Prevalencia de *Isoospora suis* en lechones criados en granjas de la región Centro – Occidental de Venezuela. *Zoot Trop* 2008;26(1):47-53.
16. Sotiraki S, Roepstorff A, Nielsen J, Maddox – Hyttel C, Enoe C, Boes J, Murrell K, Thamsborg S. Population dynamics and intra-litter transmissions patterns of *Isoospora suis* in suckling piglets under on- farms conditions. *Parasitol* 2008;135(3):395-405.
17. Pinilla JC. Estudio epidemiológico de *Isoospora suis* en granjas porcinas intensivas ubicadas en la región central de Venezuela [tesis doctoral]. Maracay, Venezuela: Universidad Central de Venezuela; 2010.
18. Feporcina. Comportamiento del sector porcino venezolano en el año 2010. *Revista de Información Divulgativa* 2010;1:10-12.
19. Estación Meteorológica El Pao – Valencia. Anuario de la estación meteorológica El Pao Valencia (804720) SVVA. Latitud: 10.16. Longitud: - 67.93. Altitud: 430 m. 2015.
20. Fernández P. Metodología de la investigación: determinación del tamaño muestral. *Manual de epidemiología clínica y bioestadística*. Madrid, España 1996;3:138-141.
21. Hendrix CM. *Diagnóstico parasitológico veterinario*. 2ª ed. Madrid, España: Editorial Harcourt Brace; 1999.
22. Henriksen SA, Christensen JP. Demonstration of *Isoospora suis* oocysts in faecal samples. *Vet Rec* 1992;131:443-444.

23. Ortega-Mora L, Troncoso J, Rojo-Vázquez F, Gómez-Bautista M. Evaluation of an improved method to purify *Cryptosporidium parvum* oocysts. Res Rev Parasitol 1992;52(3-4):127-130.
24. Statistix 8. Analytical Software for Windows. Version 8.0. USA. 2008.
25. Schwarz L, Worliczek H, Winkler M, Joachim A. Superinfection of sows with *Cystoisospora suis* ante partum leads to a milder course of cystoisosporosis in suckling piglets. Vet Parasitol 2014;204:158-168.
26. Shrestha A, Freundenschuss B, Jansen R, Hinney B, Ruttkowski B, Joachim A. Experimentally confirmed toltrazuril resistance in a field isolate of *Cystoisospora suis*. Parasites & Vectors 2017;10:317.