

UDC 636:576.8:631.427.2

## EFFICIENCY OF METHODS OF RESEARCH OF SOIL TESTS IN THE AVAILABILITY OF COCCIDIOSES AGENTS

V. V. Melnychuk<sup>1</sup>, V. A. Yevstafieva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine

<sup>2</sup> Poltava State Agrarian Academy, Poltava, Ukraine

### Article info

Received 14.03.2019

Received in revised form

28.03.2019

Accepted 01.04.2019

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary  
Medicine

and Biotechnologies Lviv,  
Lviv, Ukraine

Pekarska Str., 50, Lviv,  
79010,

E-mail:

[melnychuk86@ukr.net](mailto:melnychuk86@ukr.net)

Poltava State Agrarian  
Academy, Poltava, Ukraine  
Skovorody Str., 1/3, Poltava,  
36003

E-mail: [evstva@ukr.net](mailto:evstva@ukr.net)

Melnichuk, V. V., & Yevstafieva, V. A. (2019). Efficiency of methods of research of soil tests in the availability of coccidiosis agents. *Veterinary science, technologies of animal husbandry and nature management*, 3, 125-130. doi: 10.31890/vttp.2019.03.17.

*One of the factors of transmission of parasitic diseases, including coccidiosis of animals is objects of the environment contaminated by invasive elements. It is well known that the greatest intensity of coccidia oocysts contamination is characteristic of the soil – of the place where the exogenous stage of the pathogen development – invasive sporulated oocysts occurs. In this regard, an important issue for scientists and practitioners is the question of studying the actual soil contamination by invasive elements, since it allows predicting the epizootic well-being of herd animals and developing appropriate therapeutic and preventive measures. Thus, the aim of the work was to establish the effectiveness of soil examination methods for the presence of oocysts of eimerias. The paper presents data concerning comparative effectiveness of well-known methods – Romanenko (1968) and Hudzhabidze (1969), Dolbin et al. (2012), as well as an improved method for examining the soil for the presence of coccidia oocysts. The improvement of the new method was carried out by making changes in the indicators: the mass of the studied soil, the time of sedimentation with alkali, centrifugation modes. Also, the composition of the flotation liquid was modified, in which two-component solution (a flotation solution based on inorganic salt in combination with alkali) was used. Romanenko (1968) and Hudzhabidze (1969) used a prototype method. It has been established that the proposed method turned out to be the most effective in relation to the indicators of the number of positive samples, the total number of detected oocysts and their conversion to 1 kg of soil. So the improved method has a higher efficiency compared with the methods of Dolbin and Romanenko-Hudzhabidze according to the following indicators: the number of positive samples by 5 and 20 %; the number of detected oocysts in the studied samples was 26.21 and 53.45 %; the average number of detected oocysts per 1 kg of soil was 22.33 and 41.81 % ( $p < 0.01$ ), respectively. At the same time, the method turned out to be more effective than the techniques of Dolbin and Romanenko-Hudzhabidze in terms of the minimum indicators of the identified invasive elements by 60 and 86.67 %, and maximum – by 21.6 and 28.0 %, respectively.*

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ СПОСОБОВ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОБ ПОЧВЫ НА НАЛИЧИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОКЦИДИОЗОВ**

**В. В. Мельничук<sup>1</sup>, В. А. Евстафьева<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С. З. Гжицкого, Украина

<sup>2</sup> Полтавская государственная аграрная академия, Полтава, Украина

Одним из факторов передачи паразитарных заболеваний, в том числе и кокцидиозов животных, являются объекты внешней среды, контаминированные инвазионными элементами. Общеизвестно, что наибольшая интенсивность загрязнения ооцистами кокцидий характерна именно для почвы – места, где происходит образование экзогенной стадии развития возбудителя – инвазионной спорулированной ооцисты. В связи с этим, важным для ученых и практических врачей остается вопрос изучения фактической контаминации почвы инвазионными элементами, поскольку это позволяет прогнозировать эпизоотическое благополучие стад животных и разрабатывать соответствующие лечебно-профилактические мероприятия. Таким образом, целью работы было установить эффективность способов исследования почвы на наличие ооцист эймерий. В работе приведены данные относительно сравнительной эффективности общеизвестных методов – Романенко (1968) и Гуджабидзе (1969), Долбина и др. (2012), а также усовершенствованного способа исследования почвы на наличие ооцист кокцидий. Усовершенствование нового способа проводили путем внесения изменений в показатели: массы исследуемой почвы, времени отстаивания со щелочью, режимов центрифугирования. Также проведено модифицирование состава флотационной жидкости, в качестве которого использован двухкомпонентный раствор (флотационный раствор на основе неорганической соли в сочетании со щелочью). В качестве способа-прототипа использован метод Романенко (1968) и Гуджабидзе (1969). Установлено, что наиболее эффективным относительно показателей количества положительных проб, общего числа выявленных ооцист и их пересчета на 1 кг почвы оказался предложенный способ. Так, усовершенствованный способ обладает более высокой эффективностью по сравнению с методами Долбина и Романенко-Гуджабидзе по следующим показателям: количество положительных проб – на 5 и 20 %; количество выявленных ооцист в исследуемых пробах – на 26,21 и 53,45 %; среднее количество выявленных ооцист в 1 кг почвы – на 22,33 и 41,81 % ( $p < 0,01$ ) соответственно. Одновременно способ оказался эффективнее методик Долбина и Романенко-Гуджабидзе по минимальным показателям выявленных инвазионных элементов на 60 и 86,67 %, а максимальным – на 21,6 и 28,0 % соответственно.

**Ключевые слова:** исследование почвы, эффективность, контаминация, ооцисты кокцидий.

## **ЕФЕКТИВНІСТЬ СПОСОБІВ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОБ ҐРУНТУ НА НАЯВНІСТЬ ЗБУДНИКІВ КОКЦИДІОЗІВ**

**В. В. Мельничук<sup>1</sup>, В. О. Євстаф'єва<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Україна

<sup>2</sup> Полтавська державна аграрна академія, м. Полтава, Україна

В роботі наведені дані щодо порівняльної ефективності загальновідомих (Романенко-Гуджабідзе, Долбіна і ін.) методів, а також удосконаленого способу дослідження ґрунту на наявність ооцист кокцидій. Встановлено, що найбільш ефективним за кількістю позитивних проб, загальної кількості виявлених ооцист і їх кількістю в перерахунку на 1 кг ґрунту виявився запропонований спосіб.

**Ключові слова:** дослідження ґрунту, ефективність, контамінація, ооцисти кокцидій.

## Вступ

*Актуальність теми.* Незважаючи на зростання рівня ветеринарно-санітарного обслуговування тваринницької галузі, паразитарні хвороби тварин, спричинювані збудниками кокцидіозів, у тому числі й еймеріозів, мають значне поширення у господарствах різних країн світу (Marshall et al., 1998; Wang et al., 2010; Bakunzi et al., 2010; Rehman et al., 2011; Sharma et al., 2017). Така тенденція пояснюється швидким циклом розвитку збудників, їх значним розповсюдженням у зовнішньому середовищі та високою стійкістю до несприятливих факторів оточуючого середовища (Dubey 1998; Chinchilla et al., 2018; Lassen et al., 2013).

Саме контамінація об'єктів довкілля, зокрема ґрунту, збудниками кокцидіозів є основним чинником у поширенні та довготривалому зберіганні екзогенних стадій розвитку цих паразитів, що підтримує циркуляцію останніх серед сприйнятливих тварин на певних територіях. У зв'язку з цим, системний моніторинг санітарно-паразитологічного стану ґрунту дозволяє попередити ризики розповсюдження інвазій (Olsen et al., 1999; Ramirez & Sreevatsan, 2006; Peng et al., 2008; Warwick et al., 2000; Lassen et al., 2014).

*Аналіз останніх досліджень і публікацій.* З метою дослідження ґрунту на наявність інвазійних елементів науковцями запропоновано значну кількість новаторських розробок, способів та методик. Як показує література, більшість з них ґрунтується на способах флотації, тобто спливанні інвазійних елементів до поверхневого шару використовуваної рідини (Dada, 1979; Loh & Israf, 1998; Zilberman et al., 2009; Oge & Oge, 2010; Lélou et al., 2011; Sroka et al., 2018). Незважаючи на майже однаковий принцип процесу дослідження, встановлено, що кожна із запропонованих дослідниками методик має різні показники ефективності. Так, початкова ефективність методу Василькової (1941) в середньому становила 30 %. Послідує вдосконалення способу Василькової у співавторстві з Гефтер (1948) дозволило підвищити показник ефективності до 44,6 %, і на завершальному етапі вдосконалення методики сприяло підвищенню показників її ефективності в межах 60–69,2 %. Ефективність загальновідомих способів дослідження ґрунту на яйця гельмінтів – Романенко (1996), його модифікація у виконанні Аляутдіної (2011) – становили 73 %. Водночас ефективність способу Долбіна й ін. (2012) виявилася у 4–5 разів вищою порівняно зі способом Романенко (Novozhilov, 2014; Novozhilov, & Chernikova, 2014).

У зв'язку з недостатністю інформації щодо ефективності способів дослідження ґрунту відносно показника його контамінації ооцистами еймерій вважаємо дослідження в цьому напрямі актуальними.

*Мета роботи* – встановити ефективність способів дослідження ґрунту на наявність ооцист еймерій.

*Завдання дослідження:* дослідним шляхом визначити ефективність удосконаленого та загальновідомих способів дослідження ґрунту щодо ооцист еймерій.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили упродовж 2018 р. на базі лабораторії кафедри паразитології та ветеринарно-санітарної експертизи Полтавської державної аграрної академії.

З метою визначення ефективності удосконаленого та загальновідомих способів дослідження ґрунту на наявність ооцист еймерій проведено експериментальне дослідження 20-ти проб ґрунту, відібраних з місць утримання овець. Попередньо кожну пробу ретельно змішували та досліджували на наявність ооцист еймерій. Одну й ту ж пробу досліджували за методом: Романенко-Гуджабідзе (Kotelnikov 1984); Долбіна та ін. – патент Р. Ф № 2466388 (Dolbin, Lutfullin, & Sokolina 2014) та запропонованим удосконаленим способом (за основу взято спосіб Романенко-Гуджабідзе). Розробку нового способу здійснювали шляхом внесення змін у вагу досліджуваного ґрунту, часу відстоювання його з лугом та процедур центрифугування, а також складу флотаційної рідини, в якості якої використано розчин на основі неорганічної солі у поєднанні з лугом.

Показниками ефективності визначено кількість позитивних проб, загальна кількість виявлених ооцист у досліджуваних пробах, кількість виявлених ооцист в перерахунку на 1 кг ґрунту (екз. / кг) та їх мінімальні та максимальні значення.

Статистичну обробку отриманих результатів експериментальних досліджень здійснювали шляхом визначення середнього арифметичного (M) та його похибки (m).

## Результати та їх обговорення

При вивченні ефективності способів дослідження ґрунту щодо встановлення його контамінації ооцистами еймерій встановлено, що усі використані способи дослідження дозволяють виявляти збудників еймеріозів у досліджуваних пробах ґрунту, проте їх ефективність виявилася неоднаковою (табл. 1)

Таблиця 1

### Порівняльна ефективність різних способів дослідження ґрунту з метою виявлення ооцист еймерій, n=20

Спосіб дослідження	Кількість позитивних проб		Виявлено ооцист еймерій	
	екз.	%	всього, екз.	$M \pm m$ , екз. / кг
Романенко (1968) та Гуджабідзе (1969)	16	80	2700	168,75±27,69 **
Долбіна та ін. (2012)	19	95	4280	225,26±25,04
Удосконалений спосіб	20	100,0	5800	290,00±26,73

Примітка: \*\* –  $p < 0,01$  – порівняно з показниками удосконаленого способу

Зареєстровано, що спосіб Романенко-Гуджабідзе показав найнижчі результати ефективності. Так, з 20-ти досліджуваних проб позитивними виявилось 16. Тобто, за показником кількості позитивних проб ефективність способу склала 80 %. Загалом у досліджуваних пробах виявлено 2700 екз. ооцист еймерій, що в середньому становить  $168,75 \pm 27,69$  екз. / кг проби ґрунту.

Використання способу Долбіна та ін. мало кращі показники ефективності. Так, з 20-ти досліджуваних проб позитивними виявилось 19, що на 5 % краще за попередній спосіб. Слід зауважити, що зі збільшенням числа позитивних проб також підвищилася й загальна кількість виявлених інвазійних елементів, яка становила 4280 екз. за середніх показників  $225,26 \pm 25,04$  ооцист еймерій, що на 36,92 та 25,09 % краще за спосіб Романенко-Гуджабідзе.

Найвищі показники ефективності зафіксовано за використання запропонованого способу. Так, ефективність способу за кількістю позитивних проб становила 100 %, що на 5 та 20 % вище порівняно зі способами Долбіна й ін. та Романенко-Гуджабідзе. Встановлено, що використання способу дозволило виявити в досліджуваних пробах найбільшу кількість ооцист – 5800 екз., що на 26,21 та 53,45 % більше порівняно зі способами Долбіна й ін. та Романенко-Гуджабідзе відповідно. В середньому кількість ооцист в пробі склала  $290,00 \pm 26,73$  екз. / кг проби ґрунту, що на 22,33 та 41,81 % ( $p < 0,01$ ) більше порівняно зі способами Долбіна й ін. та Романенко-Гуджабідзе відповідно.

Слід зазначити, що використання запропонованого способу дослідження ґрунту на наявність ооцист еймерій також виявилось ефективнішим у порівнянні із загальновідомими способами за мінімальними та максимальними межами виявлених інвазійних елементів (рис. 1).

Так, мінімальну межу виявлених ооцист еймерій (20 екз. / кг ґрунту) було зареєстровано за використання способу Романенко-Гуджабідзе. Максимальний показник за використання вказаного способу становив 450 екз. / кг ґрунту.

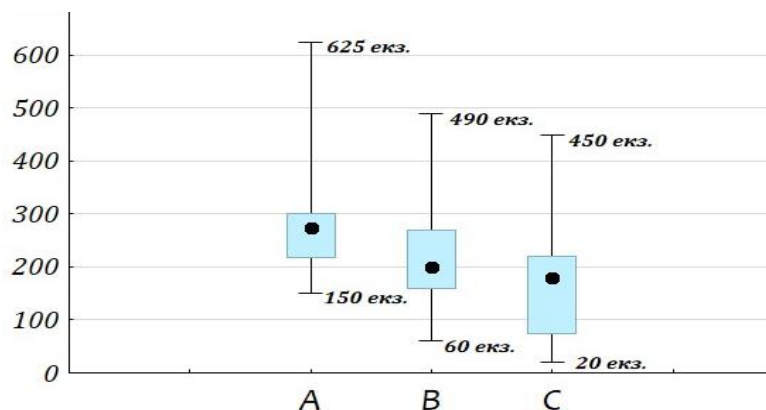


Рис. 1. Коливання показників кількості ооцист еймерій за використання різних способів дослідження ґрунту: А – запропонований спосіб; Б – Долбіна й ін.; С – Романенко-Гуджабідзе

Дещо кращі результати встановлено за використання способу Долбіна й ін., оскільки мінімальний показник виявлених ооцист еймерій із розрахунку на 1 кг ґрунту становив 60 екз., а максимальний 490 екз., що на 66,67 та 5,16 % більше у порівнянні зі способом Романенко-Гуджабідзе.

Використання запропонованого способу з метою виявлення у пробах ґрунту ооцист еймерій мало найвищі показники, оскільки мінімальна кількість виявлених ооцист в одному кг ґрунту сягнула 150 екз., а максимальна 625 екземплярів. Таким чином, удосконалений спосіб виявився ефективнішим за мінімальними та максимальними показниками у порівнянні зі способом Долбіна й ін. на 60,0 та 21,6 %, а зі способом Романенко-Гуджабідзе – на 86,67 та 28,0 %.

Згідно літературних даних, розробкою та визначенням ефективності різних способів та методів дослідження ґрунту на наявність інвазійних елементів займалася велика кількість дослідників (Dada, 1979; Zilberman et al., 2009; Sroka et al., 2018). Підвищений інтерес вчених щодо способів дослідження об'єктів довкілля свідчить про важливість здійснення санітарно-паразитологічних заходів. Як показує досвід науковців, вивчення ефективності різних способів дослідження ґрунту з метою встановлення рівня контамінації конкретним видом інвазійних елементів (яйця гельмінтів, ооцисти найпростіших) дозволяє об'єктивно оцінити епізоотичну ситуацію та науково-обґрунтовано спланувати лікувально-профілактичні заходи. Тому проведені нами експериментальні дослідження є актуальними.

Отримані нами дані свідчать про здатність способів Долбіна й ін. та Романенко-Гуджабідзе виявляти інвазійні елементи в ґрунті, що також знаходить підтвердження в роботах науковців (Novozhilov, 2014; Novozhilov, & Chernikova, 2014). Слід зауважити, що в роботі, окрім загальновідомих способів, представлено й авторську розробку, яку вперше запропоновано з метою виявлення ооцист кокцидій, що розширює вибір способів досліджень для практикуючих лікарів як гуманної так і ветеринарної медицини.

Таким чином, отримані в досліді дані мають важливе теоретичне та практичне значення при проведенні санітарно-паразитологічних досліджень з метою планування обґрунтованих лікувально-профілактичних заходів, а також розробки стратегії ведення господарської діяльності з урахуванням фактичного забруднення ґрунту.

### Висновки

1. Встановлено, що способи Долбіна та ін., Романенко-Гуджабідзе та удосконалений спосіб володіють здатністю виявляти у пробах ґрунту ооцисти кокцидій.

2. Запропонований спосіб володіє вищою ефективністю у порівнянні з методами Долбіна й ін. та Романенко-Гуджабідзе за такими показниками: кількість позитивних проб – на 5 та 20 %; кількість виявлених ооцист у досліджуваних пробах – на 26,21 та 53,45 %; середня кількість виявлених ооцист в 1 кг ґрунту – на 22,33 % та 41,81 % ( $p < 0,01$ ) відповідно.

3. Удосконалений спосіб виявився ефективнішим за способи Долбіна й ін. та Романенко-Гуджабідзе за мінімальними показниками виявлених інвазійних елементів на 60 та 86,67 % а максимальними – на 21,6 та 28,0 % відповідно.

*Перспективи подальших досліджень.* В перспективі планується встановити економічну ефективність застосування способів дослідження ґрунту.

### References

- Bakunzi, F. R., Thwane, S. N., Motesi, L. E., & Dzoma, B. M. (2010). Diversity and seasonal occurrence of *Eimeria* species in a mixed flock of communally reared sheep and goats in Mafikeng in the North West Province, South Africa. *Journal of South African Veterinary Association*, 81(3), 148–150. doi: [10.4102/jsava.v81i3.137](https://doi.org/10.4102/jsava.v81i3.137).
- Barwick, R. S., Mohammed, H. O., White, A. B., & Bryan, R. T. (2000). Detection of *Cryptosporidium parvum* and *Cryptosporidium muris* in soil samples. *Biology and Fertility of Soils*, 31(5), 385–390. doi: [10.1007/s003749900185](https://doi.org/10.1007/s003749900185).
- Chinchilla, M., Valerio, I., Sanchez, R., & Duszynski, D. (2018). Intestinal Life Cycle of *Eimeria caliginosa* (Apicomplexa: Eimeriidae) From the Dusky Rice Rat, *Melanomys caliginosus* (Rodentia: Cricetidae: Sigmodontinae), In Costa Rica. *Journal of Parasitology*, 104(4), 347–352. doi: [10.1645/16-98](https://doi.org/10.1645/16-98).

- Dada, B. J. O. (1979). A new technique for the recovery of *Toxocara* eggs from soil. *Journal of Parasitology*, 53, 141–144. [doi:10.1017/S0022149X00005873](https://doi.org/10.1017/S0022149X00005873).
- Dolbin, D. A., Lutfullin, M. H., & Sokolina, F. M. (2014). Obsledovaniya pochvyi na yaytsa gelmintov. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal*, 2, 70–76 (in Russian).
- Dubey, J. P. (1998). *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. *Journal of Parasitology*, 84, 862–865. [doi: 10.2307/3284606](https://doi.org/10.2307/3284606).
- Kotelnikov, G. A., (1984). *Gel'mintologicheskie issledovaniya zhivotnykh i okruzhajushchej sredy*. Moscow: Kolos (in Russian).
- Lassen, B., Lepik, T., & Bangoura, B. (2013). Persistence of *Eimeria bovis* in soil. *Parasitology Research*, 112(7), 2481–2486. [doi: 10.1007/s00436-013-3413-4](https://doi.org/10.1007/s00436-013-3413-4).
- Lassen, B., Lepik, T., & Jarvis, T. (2014). Seasonal recovery of *Eimeria* oocysts from soil on naturally contaminated pastures. *Parasitology Research*, 113(3), 993–999. [doi: 10.1007/s00436-013-3731-6](https://doi.org/10.1007/s00436-013-3731-6).
- Lélu, M., Gilot-Fromont, E., Aubert, D., Richaume, A., Afonso, E., Dupuis, E., ... Villena, I. (2011). Development of a sensitive method for *Toxoplasma gondii* oocyst extraction in soil. *Veterinary Parasitology*, 183 (1–2), 59–67. [doi: 10.1016/j.vetpar.2011.06.018](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.06.018).
- Loh, A. G., & Israf, D. A. (1998). Tests on the centrifugal flotation technique and its use in estimating the prevalence of *Toxocara* in soil samples from urban and suburban areas of Malaysia. *Journal of Parasitology*, 72, 39–42. [doi: 10.1017/S0022149X0000095X](https://doi.org/10.1017/S0022149X0000095X).
- Marshall, R. N., Catchpole, J., Green, J. A., & Webster, K A. (1998) Bovine coccidiosis in calves following turnout. *Veterinary Record*, 143(13), 366–367. [doi: 10.1136/vr.143.13.366](https://doi.org/10.1136/vr.143.13.366).
- Novozhilov, K. A. (2014). *Optimizatsiya metodov sanitarno-parazitologicheskikh issledovaniy ob'ektov sredy obitaniya cheloveka* (Diss. kand. med. nauk: 03.02.11). Moskva (in Russian).
- Novozhilov, K. A., & Chernikova, E. A. (2014). Aktual'nost' i sovershenstvovanie sanitarno-gel'mintologicheskikh metodov issledovaniya pochvy. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni*, 1, 58–59 (in Russian).
- Oge, H., & Oge, S. (2010). Quantitative comparison of various methods for detecting eggs of *Toxocara canis* in samples of sand. *Veterinary Parasitology*, 92, 75–79. [doi: 10.1016/S0304-4017\(00\)00276-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00276-4).
- Olsen, M. E., Phillips, J. G., Guselle, N., & McAllister, T. (1999). Giardia cyst and Cryptosporidium oocyst survival in water, soil and cattle feces. *Journal of Environmental Quality*, 28, 1991–1996. [doi: 10.2134/jeq1999.00472425002800060040x](https://doi.org/10.2134/jeq1999.00472425002800060040x).
- Peng, X., Murphy, T., & Holden, N. M. (2008). Evaluation of the Effect of Temperature on the Die-Off Rate for Cryptosporidium parvum Oocysts in Water, Soils, and Feces. *Applied Andenvironmental Microbiology*, 74 (23), 7101–7110. [doi: 10.1128/AEM.01442-08](https://doi.org/10.1128/AEM.01442-08).
- Ramirez, N. E., & Sreevatsan, S. (2006). Development of a sensitive detection system for Cryptosporidium in environmental samples. *Veterinary Parasitology*, 136 (3–4), 201–213. [doi: 10.1016/j.vetpar.2005.11.023](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.023).
- Rehman, T. U., Khan, M. N., Sajid, M. S., Abbas, R. Z., Arshad, M., Iqbal, Z., & Iqbal, A. (2011). Epidemiology of Eimeria and associated risk factors in cattle of district Toba Tek Singh. Pakistan. *Parasitology Research*, 108, 1171–1177. [doi: 10.1007/s00436-010-2159-5](https://doi.org/10.1007/s00436-010-2159-5).
- Sharma, D. K., Paul, S., Rout, P. K., Mandal, A., Bhusan, S., Sharma, N., & Kushwah, Y. K. (2017). Caprine coccidiosis in semi-arid India: Dynamics and factors affecting fecal oocysts count. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 4(1), 52–57. [doi: 10.5455/javar.2017.d190](https://doi.org/10.5455/javar.2017.d190).
- Sroka, J., Karamon, J., Dutkiewicz, J., Wójcik-Fatla, A., & Cencek, T. (2018). Optimization of flotation, DNA extraction and PCR methods for detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in cat faeces. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 25(4), 680–685. [doi: 10.26444/aaem/97402](https://doi.org/10.26444/aaem/97402).
- Wang, C. R., Xiao, J. Y., Chen, A. H., Chen, J., Wang, Y., Gao, J. F., & Zhu, X. Q. (2010). Prevalence of coccidial infection in sheep and goats in northeastern China. *Veterinary Parasitology*, 174 (3-4), 213–217. [doi: 10.1016/j.vetpar.2010.08.026](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.026).
- Zilberman, A., Zimmels, Y., Starosvetsky, J., Zuckerman, U., & Armon, R.H. (2009). A Two-Phase Separation Method for Recovery of Cryptosporidium Oocysts from Soil Samples. *Water Air and Soil Pollution*, 203 (1), 325–334. [doi: 10.1007/s11270-009-0015-y](https://doi.org/10.1007/s11270-009-0015-y).