

DINAMICA ESTACIONAL Y DIARIA EN LAS PASTURAS DE POBLACIONES DE NEMATODES TRICHOSTRONGYLIDEOS DE BOVINOS

FERREYRA, D.A., STEFFAN, P.E., FIEL, C.A., GONZALEZ, F. *

RESUMEN

El presente experimento fue desarrollado para determinar la dinámica estacional y diaria en los pastos, de poblaciones de larvas infectivas de nematodos trichostrongylideos de bovinos, evaluando a su vez, la eficiencia de dos técnicas de laboratorio.

Se utilizó una pastura consociada contaminada a través del pastoreo continuo por animales parasitados. Durante un año, a intervalos semanales y en tres momentos del día: mañana, mediodía y tarde, se colectaron manualmente muestras duplicadas de pasto.

La extracción de larvas infectivas de las muestras se realizó a través del lavado vigoroso del pasto. Para el aislamiento de las larvas infectivas, se utilizaron dos técnicas: a) Mwegoha y Jorgensen, (migración en agar-gel) y b) Baermann modificado (migración a través de papel de filtro). Con la primera, los niveles de infectividad detectados durante el verano resultaron significativamente menores ($P < 0.05$) que los detectados en las otras estaciones

* Area de Parasitología y Enfermedades Parasitarias, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA Campus Universitario (7000) Tandil, Argentina, e-mail: parasito@vet.unicen.edu.ar

del año. Con la técnica de Baermann modificada, el número de larvas infectivas registrado durante la primavera fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que el observado en el resto del año.

El horario de muestreo no tuvo efecto sobre la recuperación y aislamiento de larvas en las pasturas en ninguna de las estaciones del año ($P > 0.05$). La técnica de Mwegoha y Jorgensen resultó significativamente más eficiente para estimar la infectividad de las pasturas durante el verano, otoño e invierno. En primavera, las diferencias entre las técnicas no fueron significativas ($P > 0.05$).

Los géneros parasitarios de mayor prevalencia fueron *Cooperia spp.* y *Ostertagia spp.*, en tanto que *Haemonchus spp.*, *Trichostrongylus spp.* y *Oesophagostomum spp.* fueron hallados en menor proporción.

Palabras clave: *nematodes trichostrongylideos, pasturas, infectividad, técnicas de laboratorio.*

SUMMARY

SEASONAL AND DAILY DYNAMIC OF TRICHOSTRONGYLE LARVAE POPULATIONS IN CATTLE GRAZING PASTURES

The dynamic of trichostrongyle larvae populations on grazing cattle pastures along the year is mainly influenced by climatic conditions and its assessment by the way in which grass samples are collected and processed in the laboratory.

The aim of this experiment was to determine the seasonal and daily variation of infective trichostrongyle larvae populations on cattle grazing pastures and to evaluate the efficacy of two laboratory techniques used for estimating trichostrongyle herbage infectivity.

From a naturally infected pasture, duplicate herbage samples were collected at weekly intervals in three times of the day, i.e.: early morning, midday and late afternoon; samplings were carried out throughout the four seasons of the year. The grass samples were processed in a washing machine to extract the infective larve.

For larval isolation, two techniques were used: a) Mwegoha & Jorgensen's technique based on the capability of infective larvae to migrate through agar-gel, and b) the modified Baermann's technique in which larvae migrate in water through a filter paper.

The Mwegoha y Jorgensen's technique showed that summer pasture infectivity was lower than that recorded in other seasons ($P < 0.05$) while the

highest levels of herbage infectivity were recorded in spring ($P < 0.05$) throughout the Baermann's technique. The time of the day at which grass samples were collected did not have influence throughout the four seasons of the year ($P > 0.05$).

The Mwegoha & Jorgensen's technique showed to be more efficient than the modified Baermann's, to estimate pasture trichostrongyle larvae infectivity during summer, autumn and winter.

Key Words: *trichostrongyle nematode, herbage, infectivity, laboratory methods.*

INTRODUCCION

La determinación de la infectividad de pasturas por nematodos trichostrongylideos constituye una herramienta útil en el diagnóstico de la enfermedad, ya que indica el riesgo al que se hallan expuestos los animales en pastoreo y permite trazar patrones de infectividad que se pueden relacionar con el clima y el manejo de los animales (Fiel y Steffan, 1994 a). Dicha estimación está afectada por varios factores, entre los que se encuentran el clima, el tipo de forraje, la técnica de laboratorio (Couvillon, 1993), el período del año y el horario de muestreo (Fiel y Steffan, 1994 b).

La recolección manual de pasto es utilizada en estudios de epidemiología y en el diagnóstico de rutina de infectividad de pasturas. Aunque el método es simple, se han realizado diferentes trabajos destinados a establecer el mejor procedimiento para realizar el muestreo (Raynaud y Gruner, 1981; Cabaret et al., 1982). Según Couvillon (1993), las muestras deben ser tomadas al azar y con suficientes repeticiones para superar la variabilidad propia del muestreo. El posterior aislamiento de las larvas desde las muestras se realiza con diferentes técnicas. Una de ellas es la de Baermann (1917) con modificaciones, en la que la migración de las larvas se realiza a través de un papel de filtro que está en contacto con el agua contenida en un embudo. Mwegoha y Jorgensen (1977) propusieron una técnica de migración en agar-gel incluido en agua, donde las partículas extrañas son retenidas en el agar y las larvas, luego de migrar por el agua, se concentran en tubos cónicos.

En estudios realizados para determinar el efecto del momento del día para realizar el muestreo sobre la cantidad de larvas infectantes recuperadas, las diferencias halladas no pudieron comprobarse estadísticamente (Gettinby et al., 1985; Romero y Gruner, 1984; Krecek, et al., 1991). Dada la migración de las larvas infectivas en función de la humedad y en forma inversa a la intensidad lumínica, se recuperarían más larvas a la salida y entrada del sol y en los días nublados o lluviosos (Fiel y Steffan, 1994 a).

Se informan los resultados de un estudio orientado a contribuir a la determinación de los momentos del día de máxima recuperación de larvas infectivas de nematodos trichostrongylideos en los pastos, a lo largo de las diferentes estaciones del año y a comparar dos técnicas de laboratorio, utilizadas en la estimación de la infectividad de pasturas.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

El estudio se realizó sobre una pastura mejorada con gramíneas y leguminosas pastoreada continuamente por bovinos de recría portadores subclínicos de infecciones parasitarias internas. A intervalos semanales y durante las cuatro estaciones del año, se extrajeron al azar, muestras duplicadas de pasto en tres momentos diferentes del día: mañana, mediodía y tarde. Las muestras fueron procesadas por lavado vigoroso para extraer las larvas infectivas del pasto, para luego aislarlas y concentrarlas a través de dos técnicas de laboratorio para su cuantificación e identificación. Los datos se compararon y analizaron estadísticamente.

Período experimental

El estudio se desarrolló entre el 25 de septiembre de 1996 y el 22 de septiembre de 1997.

Campo experimental y manejo del pastoreo

Se utilizó un potrero de 9 ha del Campo Experimental 6 de la Estación Experimental del INTA en Balcarce, con una base forrajera

compuesta por una pastura implantada a base de *Thynophirum ponticum*, *Festuca arundinacea* y *Lotus tenuis*. El potrero fue dividido en tres parcelas de 3 ha a fin de optimizar el consumo de forraje a través de un esquema rotativo de pastoreo por las mismas. Desde el 25/9/96 hasta el 20/3/97 se utilizaron 24 terneros AA de un año de vida al comienzo del estudio. Posteriormente y hasta el 15/6/97 se introdujeron 51 vaquillonas AA de recría. A partir de esa fecha, el campo experimental permaneció sin animales.

Metodología de muestreo de las pasturas

A intervalos semanales, sobre una ruta de muestreo en zig-zag trazada en el potrero, se realizaron 40 detenciones frente a deposiciones fecales con formación costrosa (secas) en el exterior. En cada detención, se tomaron 4 submuestras cortando pasto a ras del suelo, a 10-20 cm del borde externo de las deposiciones y colocándolas al azar en 2 bolsas plásticas identificadas. Las muestras finales fueron de 600-700 g de pasto verde.

Para cada día de muestreo el procedimiento se repitió en tres horarios: 2 primeras horas de luz, mediodía y 2 últimas horas de sol.

Técnicas de laboratorio

Cada muestra de pasto fue primariamente procesada en una máquina de lavado, con 8-10 l de agua -sin residuos de agentes clorados- y 4-5 gotas de detergente no-iónico para facilitar la extracción de las larvas adheridas en las estructuras del forraje. El líquido de lavado fue filtrado por un tamiz de 37 micras (400 meshes) donde se concentraron las larvas, para luego transferirlas a recipientes con 50 ml de agua destilada.

Para clarificar las muestras y aislar las larvas infectivas para su cuantificación e identificación, se utilizaron las técnicas de Mwegoha y Jorgensen (1977), basada en la migración de larvas a través de una película de agar-gel y la de Baermann (1917) modificada, con migración de las larvas en medio líquido a través de un papel de filtro.

Las larvas infectivas aisladas de cada muestra de pasto, fueron coloreadas con solución yodo-iodurada, contadas e identificadas por la clave descripta por Niec (1968). El pasto de cada muestra se secó en estufa hasta peso constante para expresar el número de larvas

infectivas por kilo de pasto seco (L3/k.p.s.) a través de la siguiente fórmula:

$L3/k.p.s. = (1000 \times n) \cdot gr.p.s.^{-1}$, donde:

n: número de larvas contadas

gr.p.s.: peso en gramos de la muestra de pasto seca

Diseño experimental

El modelo utilizado fue: $y_{ijkm} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \gamma_k + \gamma_{k(i)} + \epsilon_{ijkm}$, donde:

y_{ijkm} es el recuento de larvas infectantes de la pastura obtenidas en el muestreo correspondiente a la i-ésima estación del año, j-ésima semana de la estación i, en el k-ésimo horario, repetición m.

μ es el promedio general.

τ_i es el efecto de la i-ésima estación.

$\beta_{j(i)}$ es el efecto de la semana dentro de la i-ésima estación. Error para testear el efecto estación.

γ_k es el efecto del k-ésimo horario de muestreo.

$\gamma_{k(i)}$ es el efecto del k-ésimo horario de muestreo dentro de la estación i.

ϵ_{ijkm} es el término del error correspondiente a la observación y_{ijkm} .

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados por el Proc GLM, SAS (1985). El efecto estación fue testeado con semana (estación) como término de error. Para discriminar su significancia, se utilizó el test de Duncan. Las técnicas de laboratorio se compararon a través de un test de t para muestras apareadas. El nivel de significancia fue del 5%. Para lograr homogeneidad de varianza y normalidad los datos fueron transformados a su 0.25 potencia (Abbiati y Rechioni, 1988).

RESULTADOS

Variación estacional y diaria de la infectividad de la pastura

Con la técnica de Mwegoha y Jorgensen, la infectividad de primavera, otoño e invierno fue superior a la obtenida en verano (Cua-

dro 1). No existió efecto de horario dentro de cada estación ($P>0,05$). La variabilidad de los datos (CV: 36.5) seguramente influyó en la no significancia del efecto. De todos modos, el invierno es la estación con mayor homogeneidad en la cantidad de larvas infectantes a lo largo del día, prevaleciendo la mañana sobre el mediodía y la tarde. En primavera y otoño, la mayor cantidad de larvas fue recuperada al mediodía. En verano, el muestreo de la tarde fue el más eficiente. Para aumentar la potencia del test y al no existir efecto horario, la variación estacional se evaluó con los valores de los tres horarios. La infectividad promedio detectada en el verano (447.5 L3/kps) fue significativamente menor ($P<0.05$) que la observada en primavera (1104.8 L3/kps), otoño (1047 L3/kps) e invierno (979.9 L3/kps).

Cuadro 1. Infectividad de la pastura (L3/KPS) en los tres momentos de muestreo por la técnica de Mwegoha y Jorgensen

| ESTACIÓN | HORARIO | | | | | |
|----------|---------|------------|-------|------------|-------|------------|
| | Mañ | | Med | | Tard | |
| | Media | Desv. Est. | Media | Desv. Est. | Media | Desv. Est. |
| Prim | 1104.8 | 401.6 | 1047 | 365 | 447.5 | 156 |
| Ver | 219.3 | 80.3 | 285.1 | 98.3 | 513.1 | 181 |
| Oto | 240.5 | 80.5 | 240 | 80 | 43 | 13 |
| Invi | 979.9 | 357 | 97 | 37 | 914.7 | 314.7 |

Letras iguales entre horarios dentro de cada estación no difieren significativamente. $\alpha = 0.05$

Con la técnica de Baermann (Cuadro 2) tampoco se detectaron diferencias significativas entre los horarios de muestreo en ninguna de las estaciones ($P>0.05$), el coeficiente de variabilidad también en este caso fue sumamente alto. Durante primavera y otoño la mayor infectividad fue obtenida a la mañana; en tanto que en verano e invierno el horario de muestreo más eficiente fue el de la tarde. En términos estacionales, la mayor cantidad de larvas fue hallada en primavera (1041.3 L3/kps), difiriendo significativamente ($P<0.01$) de los promedios observados en verano (285.1 L3/kps), otoño (240 L3/kps) e invierno (365.5 L3/kps).

Diferencias entre técnicas de laboratorio

Con la técnica de Mwegoha y Jorgensen se recuperaron cantidades significativamente superiores que con la técnica de Baermann

Cuadro 2. Infectividad de la pastura (L3/KPS) en tres momentos de muestreo por la técnica de Baermann.

| ESTACIÓN | HORARIO | | | | | |
|----------|---------|------|------|------|------|------|
| | Mañ | | Medi | | Tard | |
| | Reco | Dist | Reco | Dist | Reco | Dist |
| Ver | 101 | 96 | 63 | 63 | 92 | 92 |
| Oto | 100 | 67 | 33 | 33 | 57 | 57 |
| Inv | 24 | 25 | 10 | 10 | 12 | 12 |
| Prim | 35 | 39 | 60 | 60 | 87 | 87 |

Letras iguales entre horarios dentro de cada estación no difieren significativamente. $\alpha = 0.05$

en el muestreo de la mañana del verano ($P < 0.05$); en los tres horarios durante el otoño (mañana $P < 0.01$; mediodía $P < 0.01$; tarde $P < 0.05$) y en la mañana ($P < 0.01$) y el mediodía ($P < 0.01$) del invierno. En primavera, las diferencias entre las técnicas no fueron significativas ($P > 0.05$), (Cuadros 1 y 2).

Distribución proporcional de géneros parasitarios

Cooperia spp. y *Ostertagia spp.* fueron los géneros de mayor prevalencia. *Cooperia* alcanzó valores del 52% en otoño, 68% en primavera y 73% en verano. *Ostertagia spp.* prevaleció en otoño-invierno. En menor medida, fueron hallados *Haemonchus spp.*, *Trichostrongylus spp.* y *Oesophagostomum spp.* La distribución de géneros fue similar para las dos técnicas de laboratorio evaluadas.

DISCUSION

Uno de los mayores inconvenientes que se presentan al pretender definir el comportamiento de las larvas infectivas de nematodos gastrointestinales en los pastos, es la variabilidad que presentan los datos. A los factores ya mencionados como causa de dicha variabilidad (clima, método de muestreo, tipo de forraje) hay que sumar las pérdidas que se producen desde la recolección del pasto hasta la recuperación de las larvas que pueden significar del 20 al 60% del total de larvas presentes (Suárez, 1997).

El método de muestreo de la pastura utilizado, si bien no constituye el de mayor precisión, indica la infectividad potencial de una pastura. En los trabajos donde se compararon diferentes formas de muestreo de las pasturas, no fue posible mencionar un método que resulte superior a los demás debido a la variabilidad que presentaron los datos. Raynaud y Gruner (1981) utilizando el mismo método de este trabajo recuperaron mayor cantidad de larvas de *Dictyocaulus*, *Ostertagia* y *Cooperia* que con un método de muestreo al azar sobre una ruta en forma de W, en tanto que Bryan y Kerr (1988) compararon tres métodos diferentes de recolección manual de pasto: uno con animales fistulados de esófago y otro con animales trazadores de infectividad. El muestreo manual del área de mayor intensidad de pastoreo es, según estos autores, el método más preciso. Sin embargo, la delimitación del área mencionada resulta engorrosa y de escasa practicidad para el diagnóstico parasitológico de rutina. El método utilizado en el presente trabajo, es fácilmente practicable para dichos fines.

La variación estacional de la infectividad de las pasturas observada en el experimento es coincidente con la bibliografía existente. Según Fiel y Steffan (1994 a) en sistemas de recría e invernada la contaminación e infectividad de las pasturas comienza a descender desde la primavera vegetal en adelante. La primera como consecuencia de un menor aporte de huevos a la pastura, por la inmunidad que adquieren los animales (15 meses de edad). La infectividad de los pastos disminuye por el crecimiento de forraje que diluye la cantidad de larvas infectantes y por la acción directa de la radiación solar que condiciona la sobrevivencia de las larvas. Esta situación se observó en el experimento, llegando en el verano a niveles realmente bajos. Según los mismos autores, durante el otoño la infectividad de los pastos aumenta debido a la traslación de larvas provocada por las lluvias desde deposiciones fecales remanentes del ciclo de producción anterior. Los animales recién ingresados (terneros de destete), encuentran este "pie de infección" y reciclan rápidamente la enfermedad eliminando gran cantidad de huevos con la materia fecal; éstos contribuirán al aumento progresivo de la cantidad de larvas en los pastos. Así, los máximos niveles de infectividad se observan durante los meses invernales. Este hecho fue observado en el experi-

mento solo con la técnica de Mwegoha y Jorgensen (1977) que arrojó valores crecientes de infectividad durante el otoño y niveles altos durante el invierno. Los resultados obtenidos en cuanto a la variación diaria son coincidentes con parte de la bibliografía existente. En Chile, Sievers et al. (1996) no hallaron diferencias en la infectividad de pasturas muestreadas a la mañana y a la tarde durante primavera y verano con temperaturas medias entre 10-18°C y precipitaciones de aproximadamente 25 mm semanales. En Sudáfrica, Krecek et al. (1991) tampoco observaron diferencias en la cantidad de larvas de *H. contortus* y *H. placei* recuperadas en cinco horarios de muestreo desde el amanecer hasta el anochecer. En este caso se utilizó riego artificial a razón de 35 mm semanales y las temperaturas medias oscilaron entre 15 y 24°C. Gettinby, et al. (1985) utilizando ovejas fistuladas, no encontraron diferencias en el número de larvas recuperadas a las 9, 12 y 15 h. Si bien este efecto de horario de muestreo no pudo comprobarse estadísticamente, en el verano la mayor cantidad de larvas fue recuperada, con ambas técnicas en los muestreos de la tarde, hecho que adquiere importancia desde un punto de vista práctico, ya que indicaría la conveniencia de realizar los muestreos en dicho momento.

Con respecto a las técnicas de laboratorio, con excepción de la primavera, en las restantes estaciones la técnica de Mwegoha y Jorgensen demostró ser en todos los horarios de muestreo más efectiva que la de Baermann. Esta diferencia de eficiencia podría deberse a las condiciones en las cuales se realiza la migración larval, -temperatura óptima- en el método de Mwegoha y Jorgensen comparado con el de Baermann que se efectúa a temperatura de laboratorio.

La participación relativa de cada género parasitario en las diferentes estaciones del año es coincidente con la información existente acerca de dicha prevalencia en la región Pampeana. *Ostertagia spp.* y *Cooperia spp.* predominan sobre los otros géneros durante todo el año. La distribución estacional de los géneros obedece a que *Ostertagia spp.* es un parásito adaptado a climas templados fríos, que alcanza su mayor incidencia a la altura del paralelo 38, sudeste de la provincia de Buenos Aires (Fiel y Steffan, 1994 a). *Cooperia spp.* en cambio, es un género intermedio entre los adaptados a climas fríos y los prevalentes en climas cálidos. Otros géneros adaptados a climas cálidos como *Haemonchus* y *Oesophagostomum*, alcanzaron su mayor

incidencia en el verano aunque en menor proporción que en trabajos anteriores realizados en la zona.

Se pueden establecer las siguientes conclusiones:

a) Con respecto a la variación estacional, se comprobó con la técnica de Mwegoha y Jorgensen, que en el verano ocurre una gran disminución de la infectividad de las pasturas.

b) No se comprobó variación diaria significativa en la infectividad de las pasturas.

c) La técnica de Mwegoha y Jorgensen demostró ser más eficiente que el método de Baermann modificado, en la estimación de la infectividad de pasturas por nematodos trichostrongylideos.

d) A la vista de los resultados, surge la necesidad de realizar trabajos con mayor frecuencia de muestreo. Sin embargo, a medida que se acorta el intervalo entre los mismos, se dificulta la extrapolación de los resultados a los trabajos de diagnóstico en sistemas reales de producción, donde usualmente, el intervalo entre muestreos es de cuatro semanas.

REFERENCIAS

ABBIATI, N.; RECHIONI, L. (1988). Transformaciones de potencias en modelos lineales. Comunicaciones de XVI Coloquio Argentino de Estadística, 1-7.

BAERMANN, G. (1917). Eine einfache methode zur auffindung von Ankylostomum (Nematoden)-larven in erdproben. Geneesk. Tijdschr. Ned.-Indie, 57: 131-137.

BRYAN, R.P.; KERR, J.D. (1988). The grazing behaviour of cattle in relation to the sampling of infective nematode larvae on pasture. Vet. Parasitol., 30: 73-82.

CABARET, J.; RAYNAUD, J.P.; LE STANG, J.P. (1982). Comparison between tracer calves and herbage samplings for the assesment of pasture infectivity in trichostrongylosis of cattle. Vet. Parasitol., 10: 65-71.

COUVILLON, C.E. (1993). Estimation of the numbers of trichostrongylid larvae on pastures. Vet. Parasitol., 46, 197-203.

FIEL, C.A. y STEFFAN, P.E. (1994 a). Epidemiología de los nematodos gastrointestinales en la Pampa Húmeda. En: Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. (A. Nari y C. Fiel, editores); 1º Edición, pp. 67-129, Editorial Hemisferio Sur.

FIEL, C.A. y STEFFAN, P.E. 1994 b). Guía de procedimientos para el diagnóstico de nematodos en bovinos. Cuadernillo de Divulgación Técnica, Ed. Hoechst Argentina S.A.

GETTINBY, G.; McKELLAR, Q.A.; BAIRDEN, K.; THEODORIS, Y.; WHITELAW, A. (1985). Comparisson of two techniques used for recovery of nematode infective larvae from pasture. Res Vet. 39: 99-102.

JORGENSEN, R.J. (1980). Epidemiology of bovine Dictyocaulosis in Denmark. Vet. Parasitol., 7: 153-167.

KRECEK, R.C.; GROENEVELD, H.T.; van WYK, J.A. (1991). Effects of time of day and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigated pasture. Vet. Parasitol., 40: 87-98.

MWEGOHA, W.M. Y JORGENSEN, R.J. (1977). Recovery of infective 3rd. stage larvae of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia ostertagi* by migration in agar gel. Acta Vet. Scand., 18: 293-299.

NIEC, R. (1968). Cultivo e identificación de larvas infectantes de nematodos gastrointestinales del bovino y ovino. Manual Técnico N° 3, INTA, Argentina, 37 pág.

RAYNAUD, J.P.; GRUNER, L. (1981). Comparisson of techiques for assesment of the contamination of positive herbage with infective nematode larvae. In: Epidemiology and Control of nematodiasis in cattle. (P. Nansen, Jorgensen, R.J. Soulsby, E.J.L.; editors), Martinus Nijhoff Publishersd, The Hague, Boston and London pp. 51-64.

ROMERO, C.G.; GRUNER, L. (1984). Effect of temperature and humidity in gastrointestinal strongyle infections of cattle pastures. Ann. Rech. Vet. 1: 65.
S.A.S. INSTITUTE INC. (1985). SAS User's Guide: Basics, Version 5 edn. (1290 pp.) and SAS User's Guide: Statistics, Version 5 edn. (956 pp.), Cary, NC: SAS Institute Inc.

SIEVERS, G.; QUINTANA, I.; CORTESE, F.; ORTEGA, F.; y ERNST, S. (1996). Distribución de las larvas infectantes de trichostrongilidos del bovino sobre el pasto durante un año. Trabajo presentado en el V E.R.V.E. Merlo (San Luis), 23-24 de Mayo.

SUAREZ, V. H. (1997). Diagnóstico de las parasitosis internas de los rumiantes en la región de invernada. Interpretación y técnicas. Bol. divulgación técnica N°56, EEA Anguil, INTA, 50 p.