

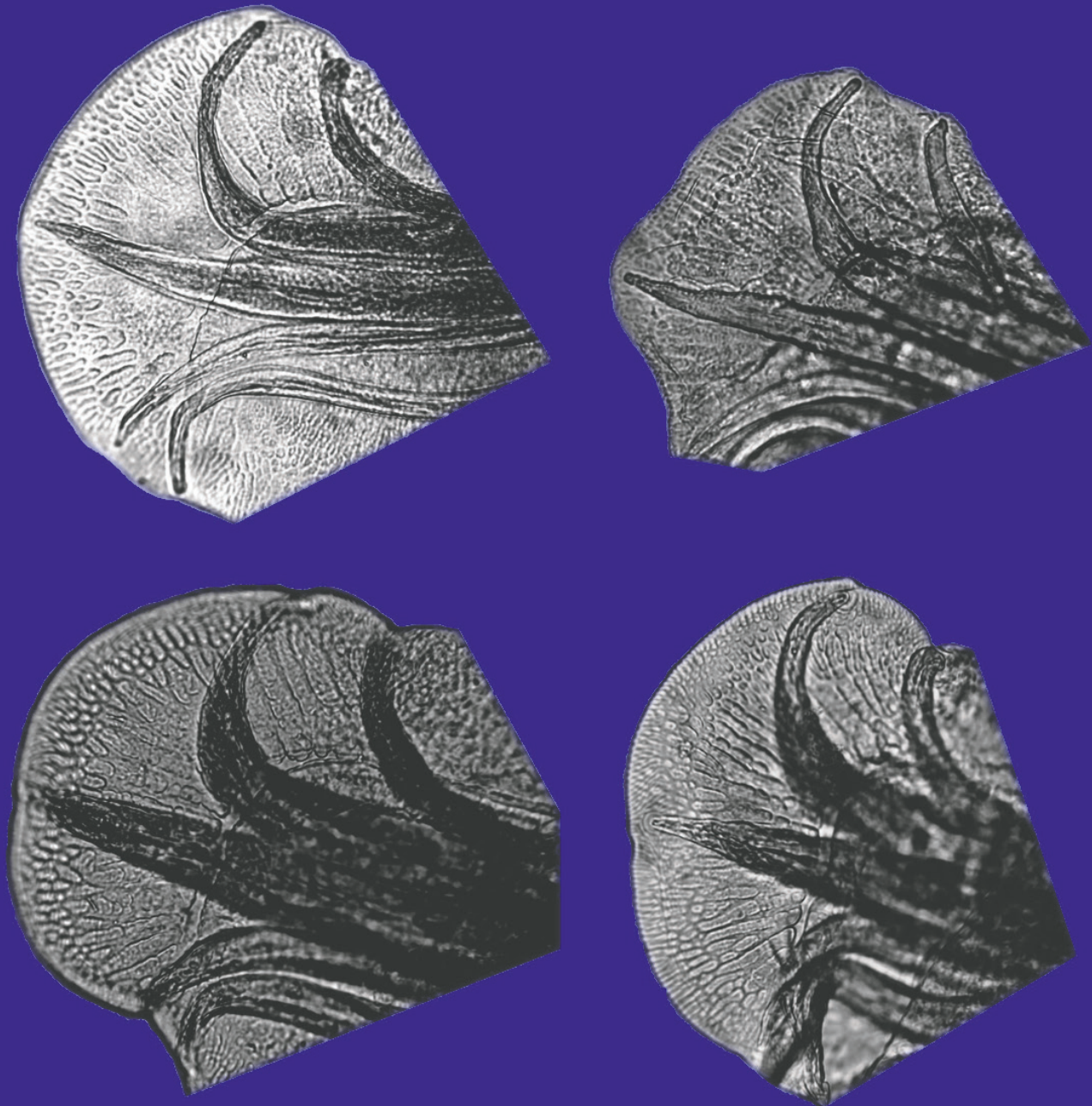


Asociación
Parasitológica
Argentina

Volumen 13. Nro. 1

(Rev. Arg. Parasitol.)

Órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina



ISSN: 2313-9862

Revista Argentina de Parasitología

REVISTA ARGENTINA DE PARASITOLOGÍA (*Rev. Arg. Parasitol.*)

ISSN 2313-9862

Volumen 13 Nro. 1

E-mail: revargparasitologia@gmail.com**Patrocinado por****Asociación Parasitológica Argentina****Editora Responsable****Julia Inés Díaz**

Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores,
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas
y Técnicas, Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - jidiaz@cepave.edu.ar

Editora Asistente**María Celina Digiani**

División Zoología Invertebrados, Museo de La Plata,
Universidad Nacional de La Plata - Argentina -
mdigiani@fcnym.unlp.edu.ar

Editores de Estilo

Diseño web y diagramación: Rocío Vega - Laboratorio
de Parasitología, Instituto de Investigaciones en
Biodiversidad y Medioambiente, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional del Comahue - Argentina -
rociovega@gmail.com

Revisión de idioma inglés: Regina Draghi - División
Zoología Invertebrados, Museo de La Plata,
Universidad Nacional de La Plata - Argentina -
rdraghi@fcnym.unlp.edu.ar

Lucas E. Garbin - Centro de Estudios Parasitológicos y
de Vectores y Universidad Nacional Arturo Jaureche -
Argentina - lucasegarbin@gmail.com

Editores Asociados

Nathalia Arredondo - Instituto de Biodiversidad y
Biología Experimental y Aplicada, Universidad de
Buenos Aires, Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Técnicas - Argentina -
paranatha@gmail.com

Claudio Barbeito - Cátedra de Histología y Embriología
y Cátedra de Patología, Facultad de Ciencias
Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - barbeito@fcv.unlp.edu.ar

Fabiana Drago - División Zoología Invertebrados,
Museo de La Plata Universidad Nacional de La Plata -
Argentina - fdrago@fcnym.unlp.edu.ar

Jorge Etchegoin - Departamento de Biología, Facultad
de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad
Nacional de Mar del Plata - Argentina -
jetchecho@mdp.edu.ar

María Cecilia Ezquiaga - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina - cecilia@cepave.edu.ar

Leonora Kozubsky - Departamento de Ciencias
Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina -
kozubsky@biol.unlp.edu.ar

Graciela T. Navone - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina -
gnavone@cepave.edu.ar

Carlos Rauque - Laboratorio de Parasitología,
Instituto de Investigaciones en Biodiversidad y
Medioambiente, Consejo Nacional de Investigaciones
Científicas y Técnicas, Universidad Nacional del
Comahue - Argentina -
carlosalejandrorauque@gmail.com

María del Rosario Robles - Centro de Estudios
Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de
Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad
Nacional de La Plata - Argentina -
rosario@cepave.edu.ar

Daniel Tanzola - Laboratorio de Parasitología de
Organismos Acuáticos, Departamento de Biología,
Bioquímica y Farmacia Universidad Nacional del Sur
e Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del
Sur, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y
Técnicas - Argentina - rtanzola@criba.edu.ar

Juan Manuel Unzaga - Laboratorio de Inmunoparasitología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata - Argentina - junzaga2003@yahoo.es

María Lorena Zonta - Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Universidad Nacional de La Plata- Argentina - lorenazonta@cepave.edu.ar

Comité de Expertos o Asesores

Scott Lyell Gardner
University of Nebraska - USA

Daniel Brooks
University of Toronto - Canadá

Agustín Jimenez
University of Carbondale - USA

Diana Masih
Universidad Nacional de Córdoba - Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas - Argentina

Ana Flisser
Universidad Nacional Autónoma de México - México

Oscar Jensen
Departamento Investigación en Salud - Argentina

Federico Kaufer
Hospital Alemán - Argentina

Alberto A. Guglielmono
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Argentina

Juan A. Basualdo Farjat
Universidad Nacional de La Plata - Argentina

José M. Venzal Bianchi
Universidad de la República - Uruguay

Katharina Dittmar
Department of Biological Sciences - USA

Santiago Nava
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria - Argentina

Pedro Marcos Linardi
Universidade Federal de Minas Gerais - Brasil

Esteban Serra
Universidad Nacional de Rosario - Argentina

Revista Argentina de Parasitología

Rev. Arg. Parasitol.

Órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina
ISSN: 2313-9862


Revista en línea y de acceso abierto:  www.revargparasitologia.com.ar

Imagen de Portada

Bolsas copulatrices de *Haemonchus contortus*. Autor: Claudio Juan Giudici

La Asociación Argentina de Parasitología (APA) forma parte de la Asociación Argentina de Revistas y Editores de Ciencias de la Salud (AARECS) Asociación Civil y se encuentra indizada por la Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC Data Bases) y el Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Latindex).

ANTE LA ADVERSIDAD, CIENCIA Y COMPROMISO. REFLEXIONES FRENTE A LAS POLÍTICAS QUE AFECTAN EL DESARROLLO CIENTÍFICO DE LA ARGENTINA

La Asociación Parasitológica Argentina (APA) reúne a profesionales y académicos interesados en las ciencias biológicas, veterinarias, bioquímicas y médicas, abocados a la generación de conocimiento sobre diversos aspectos de la parasitología, con impacto en la salud de la población y del ambiente, en la ecología de los sistemas naturales y en las actividades productivas. La mayoría de sus miembros pertenecen a instituciones públicas de educación superior, de ciencia y tecnología, y de salud, las cuales en el último tiempo vienen sufriendo una agresiva campaña de desprestigio y un clima generalizado de incertidumbre.

En este sentido, manifestamos nuestra mayor preocupación por la situación socio-económica que afecta a nuestro país desde el 10 de diciembre de 2023. En particular, las políticas puestas en práctica en los últimos meses conducen al desmantelamiento de las estructuras administrativas, la interrupción del financiamiento, la pérdida del poder adquisitivo de los trabajadores del sector y la precarización laboral de las nuevas generaciones, poniendo a la ciencia argentina en una situación de riesgo sin precedentes. En el breve período transcurrido, ya hemos sufrido la pérdida de puestos de trabajo, la interrupción de las investigaciones, la eliminación de recursos para la adquisición de insumos y equipamiento, y el inicio de una fuga de cerebros formados con el esfuerzo de la sociedad toda en entidades públicas. A largo plazo, las consecuencias serán irreparables, con riesgos de perder una generación de científicos/as que aseguren la continuidad de las investigaciones y proyectos que se habían comenzado a diseñar en las últimas décadas. Consideramos que las políticas científicas y académicas impuestas por el nuevo gobierno, acarrearán gravísimas consecuencias para la continuidad y desarrollo del conocimiento científico argentino, del cual tenemos sobradas evidencias para enorgullecernos.

Más allá de sus objetivos científico-académicos, la APA tiene entre sus propósitos procurar la formación académica continua y propiciar el permanente contacto y comunicación, fomentando un espíritu de solidaridad, colaboración y asistencia entre sus miembros. Del mismo modo, su órgano de difusión oficial, la Revista Argentina de Parasitología (RAP) contribuye a la promoción, difusión y asesoramiento de distintos aspectos de la Parasitología con un enfoque multidisciplinario, tanto en el ámbito local y regional como internacional. Es nuestro compromiso como Asociación mantener altas esas banderas. De continuar las actuales políticas entendemos que estas metas también se verán afectadas impactando negativamente en nuestra Sociedad.

Por estos motivos, consideramos necesario manifestarnos en contra de las medidas que atentan contra las estructuras del Estado, y en particular contra el sistema científico, tecnológico y académico, a fin de defender y sostener su valor estratégico para el desarrollo de un país soberano.

Dr. Juan Timi

Presidente de la Asociación Parasitológica Argentina

Dra. Julia Inés Díaz

Editora Responsable de la Revista Argentina de Parasitología

Diferencias morfológicas en las venas de la bolsa copulatrix como identificación fenotípica en poblaciones de *Haemonchus contortus* (Nematoda: Haemonchidae) resistentes a benzimidazoles

Morphological differences in veins of the bursa copulatrix as phenotypic identification in populations of *Haemonchus contortus* (Nematoda: Haemonchidae) resistant to benzimidazoles

Giudici Claudio Juan^{1*}, Illanes Federico Adrián², Niño Uribe Alvaro Iván^{2,3}, Pruzzo César Iván², Romero Jorge Roberto²

RESUMEN: El objetivo del trabajo fue analizar la variabilidad y la singularidad de las venaciones bursales entre distintos aislamientos y linajes de *Haemonchus contortus*, provenientes del reemplazo de poblaciones resistentes a benzimidazoles por otras poblaciones susceptibles a estos antihelmínticos. Por medio de un procesamiento numérico de fotos digitales de las bolsas caudales, obtenidas al microscopio óptico, se analizaron los individuos de cuatro aislamientos: uno resistente, otro susceptible, y dos en proceso de reemplazo de poblaciones resistentes por susceptibles. Las imágenes fueron obtenidas de machos de los cuatro aislamientos, del área comprendida entre el tercer y cuarto rayo del lóbulo derecho. Se realizó un análisis biométrico de las imágenes digitales que consistió en escanear en píxeles las venaciones de cada nematodo por medio de edición gráfica, con el fin de obtener los valores de radiancia de su morfología. Para el análisis estadístico se recurrió a un Análisis Multivariado Discriminante, que clasificó correctamente al 95% en los individuos de los cuatro aislamientos considerados globalmente y entre 85% y 100 % en las poblaciones susceptibles o resistentes a benzimidazoles. El resultado obtenido permitiría disponer de una herramienta para identificar poblaciones de *H. contortus* - en este caso resistentes y susceptibles a benzimidazoles- a partir de las singularidades morfológicas en las venaciones de las bolsas caudales.

Palabras clave: *Haemonchus contortus*, resistencia antihelmíntica, benzimidazoles, bolsa copulatrix, venas

ABSTRACT: The objective of the work was to analyze the variability and uniqueness of bursal venations among different isolates and lineages of *Haemonchus contortus*, resulting from the replacement of populations benzimidazole-resistant by populations susceptible to these anthelmintics. By means of numerical processing of digital photos of the caudal bursa, obtained by light microscopy, we analyzed individuals of four isolates: one resistant, one susceptible, and two from the process of population replacement from benzimidazole-resistant to susceptible ones. The images were obtained from males of each of the four isolates from the area between the third and fourth rays of the right lobe. A biometric analysis of the digital images was carried out, which consisted of scanning the venations of each nematode in pixels by means of graphic editing, in order to obtain the radiance values in their morphology. For the statistical analysis, a Discriminant Multivariate Analysis was used, which classified correctly 95% of the individuals of the four isolates and 85% - 100% among the susceptible or resistant populations. The results obtained would provide a tool to identify populations of *H. contortus*- in this case benzimidazole-resistant or susceptible- based on morphological singularities in the bursal venation.

Keywords: *Haemonchus contortus*, anthelmintic resistance, benzimidazoles, bursa copulatrix, veins

INTRODUCCIÓN

Haemonchus contortus (Rudolphi, 1803) (Trichostrongyloidea, Haemonchidae) es un parásito abomasal de rumiantes domésticos y silvestres que impacta en la salud y la productividad de ovinos y caprinos en todo el mundo. Probablemente su alta fecundidad y breve intervalo intergeneracional, sumado a su plasticidad fenotípica, permiten la

adaptación de *H. contortus* a diversos climas y tratamientos antihelmínticos (Emery et al., 2016).

El tegumento, conformado por la cutícula y la hipodermis, otorga a estos nematodos las funciones biológicas de alimentarse, moverse y regular su equilibrio osmótico. La cutícula (CT), generada por la hipodermis, es una de las vías de absorción de los fármacos antihelmínticos (Lanusse et al., 2016),

¹ Cátedra de Enfermedades Parasitarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario. Spangenberg 1000 (2170) Casilda, Santa Fe, Argentina.

² Centro de Diagnóstico e Investigaciones Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 118 S/N (1900) La Plata, Buenos Aires, Argentina.

³ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas.

es sintetizada por los nematodos antes de cada muda y constituye una matriz extracelular altamente estructurada que actúa a modo de interfase antigénica con el hospedador. En *Haemonchus placei* (Place, 1893) la ultraestructura de la CT muestra una capa unida a la membrana, una corteza externa, una corteza interior, una matriz, tres capas de fibras y una lámina basal (Smith y Harness, 1972). La epicutícula, capa más externa, se encuentra apoyada sobre un estrato cuticular medio y éste sobre un nivel basal. Como en casi todos los nematodos, incluido los adultos y larvas de *H. contortus*, existen entre estas capas puntales situados a cada lado de las hendiduras cuticulares que forman los anillos (Eckert y Schwarz, 1965). Por entre esos pilares, que se encuentran separados por canales, circulan lípidos en forma de fluidos (Smith y Harnes, 1972, Cox et al., 1981; Fetterer y Rhoads, 1993). Los nematodos machos del género *Haemonchus* Cobb, 1898 como todos los pertenecientes al orden Strongylida, tienen la particularidad de poseer en su extremidad caudal una bolsa copulatriz o bolsa caudal (BC) formada por la cutícula, que actúa a modo de órgano sexual accesorio. En particular las BC de los Trichostrongylideos son estructuras fenotípicas de interés filogenético, taxonómico y evolutivo (Durette Desset, 1985). La BC está formada por dos lóbulos

laterales y uno dorsal sostenidos por costillas o rayos musculares que terminan en papilas sensitivas (Durette-Desset, 1985) (Fig. 1). Al microscopio óptico, entre los rayos, se observan surcos ramificados, que podrían ser compatibles con la estructura de los canales de la capa matriz de la cutícula (Cox et al., 1981) (Fig. 2). En *H. contortus*, estos conductos, por su forma y semejanza con las venas de la piel de los mamíferos, podrían denominarse “venaciones”.

Desde el punto de vista químico, la CT presenta como composición mayoritaria, capas sucesivas compuestas de proteínas insolubles como las cuticulinas o quitinas, que están determinadas genéticamente y se encuentran ampliamente distribuidas en el Phylum Nematoda (Cox et al., 1990), así como también lípidos, islas de glicoproteínas y colágenos reticulados (Bird y Bird, 1969; Page y Johnstone, 2007). Por ello, el conocer la variabilidad de la cutícula permitiría tener una idea de las diferencias intraespecíficas de *H. contortus*, ya que ésta y la hipodermis son los órganos más importantes en el control del desarrollo del tamaño corporal del nematodo (Flemming et al., 2000).

Los Benzimidazoles (BZ) se utilizan para el control de nematodos gastrointestinales desde hace décadas (Campbell, 1990), ya que inhiben la polimerización de

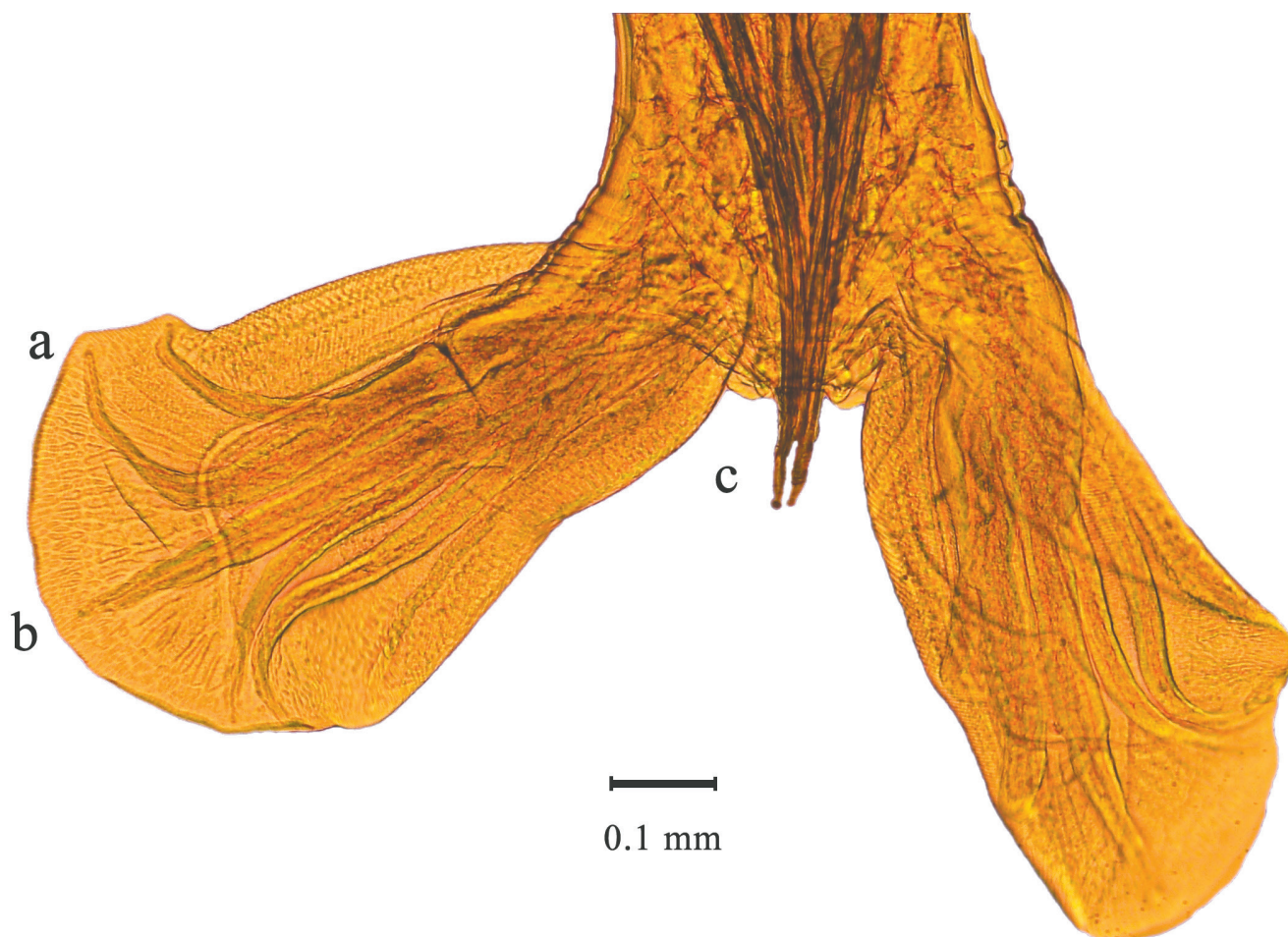


Figura 1. Vista ventral al microscopio óptico a 100 aumentos de la bolsa copulatriz de *Haemonchus contortus*, aislamiento CEDIVE. a) Tercer rayo derecho y papila 3 derecha. b) Cuarto rayo derecho y papila 4 derecha. c) espículas.

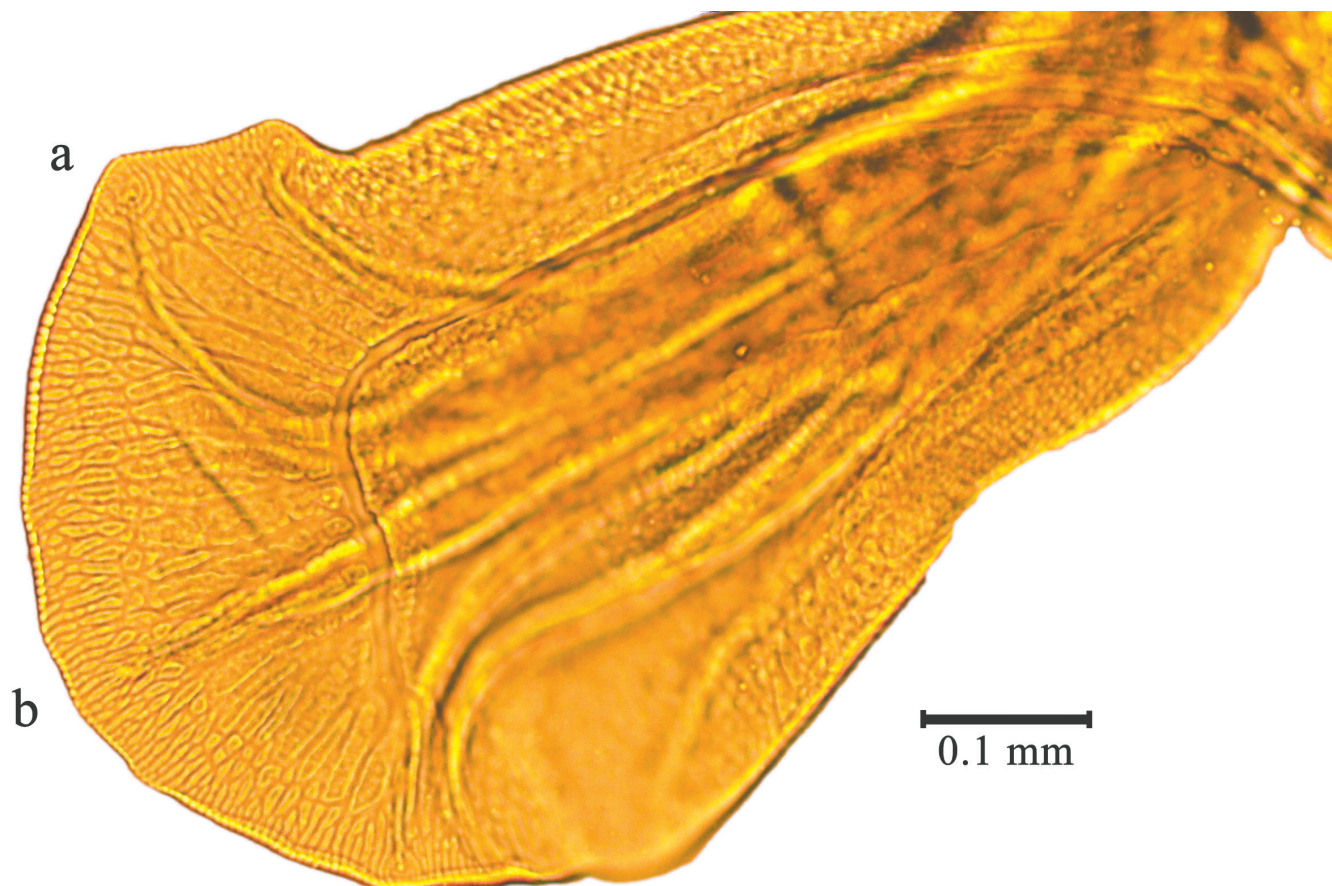


Figura 2. Vista ventral al microscopio óptico a 200 aumentos del lóbulo derecho de la bolsa copulatrix de *H. contortus*, aislamiento CEDIVE. a) Tercer rayo derecho y papila 3 derecha. b) Cuarto rayo derecho y papila 4 derecha.

la β tubulina en los microtúbulos de los parásitos (Lacey, 1988, 1990). El fenómeno de la resistencia a estas drogas ha sido ampliamente descrito (Conway, 1964; Green *et al.*, 1981; Duwel *et al.*, 1987; Echevarria *et al.*, 1996). Estudios con genotipos de *H. contortus* han demostrado una correlación en el gen de isotipo 1 de la β tubulina en las posiciones 167, 198 y 200, de tres polimorfismos llamados polimorfismos de nucleótido único (SNP) (Kwa *et al.*, 1994; Robinson, *et al.*, 2002; Barrère *et al.*, 2013). Los parásitos susceptibles al BZ albergan, en el codón 200 del gen del isotipo 1 de la β tubulina, homocigotas Phe/Phe y heterocigotas Phe/Tyr, mientras que los gusanos resistentes albergan homocigotas Tyr/Tyr.

Nuestra hipótesis es que las venaciones de la BC responden a patrones comunes de subpoblaciones de *H. contortus*, por ello podrían servir como marcadores fenotípicos de atributos de aptitud ambiental o de resistencia antiparasitaria.

En este contexto, el trabajo tiene como objetivo analizar la variabilidad morfológica de las venaciones entre aislamientos y linajes de *H. contortus* resistentes y susceptibles a benzimidazoles y evaluar su potencial utilidad como marcadores fenotípicos de dichos atributos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Luego de su faena humanitaria (Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, 2014), fueron colectados los nematodos de abomasos de ovinos machos de 8 - 9 meses de edad, de raza indefinida y provenientes del establecimiento Don Facundo, Curuzú Cuatiá, Corrientes, Argentina, según pautas de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (Wood, *et al.* 1995). Se utilizaron para este estudio 80 nematodos machos *H. contortus* provenientes de cuatro aislamientos: 20 procedentes de una población susceptible a benzimidazoles (población "CEDIVE"); 20 originarios de una población resistente a benzimidazoles denominada "Don Facundo"; 20 identificados como aislamiento "Hc2016", obtenido como resultado de un primer reemplazo de la población "Don Facundo" con la población "CEDIVE" susceptible; 20 identificados como aislamiento "Hc2018" obtenido como resultado de un segundo reemplazo de la población "Hc2016" con el aislamiento "CEDIVE" (Fig. 3a). La obtención de aislamientos mediante reemplazo de poblaciones resistentes por susceptibles siguió la metodología de Muchiut *et al.* (2022). Tanto al inicio como en la evolución del proceso de reemplazo de poblaciones,

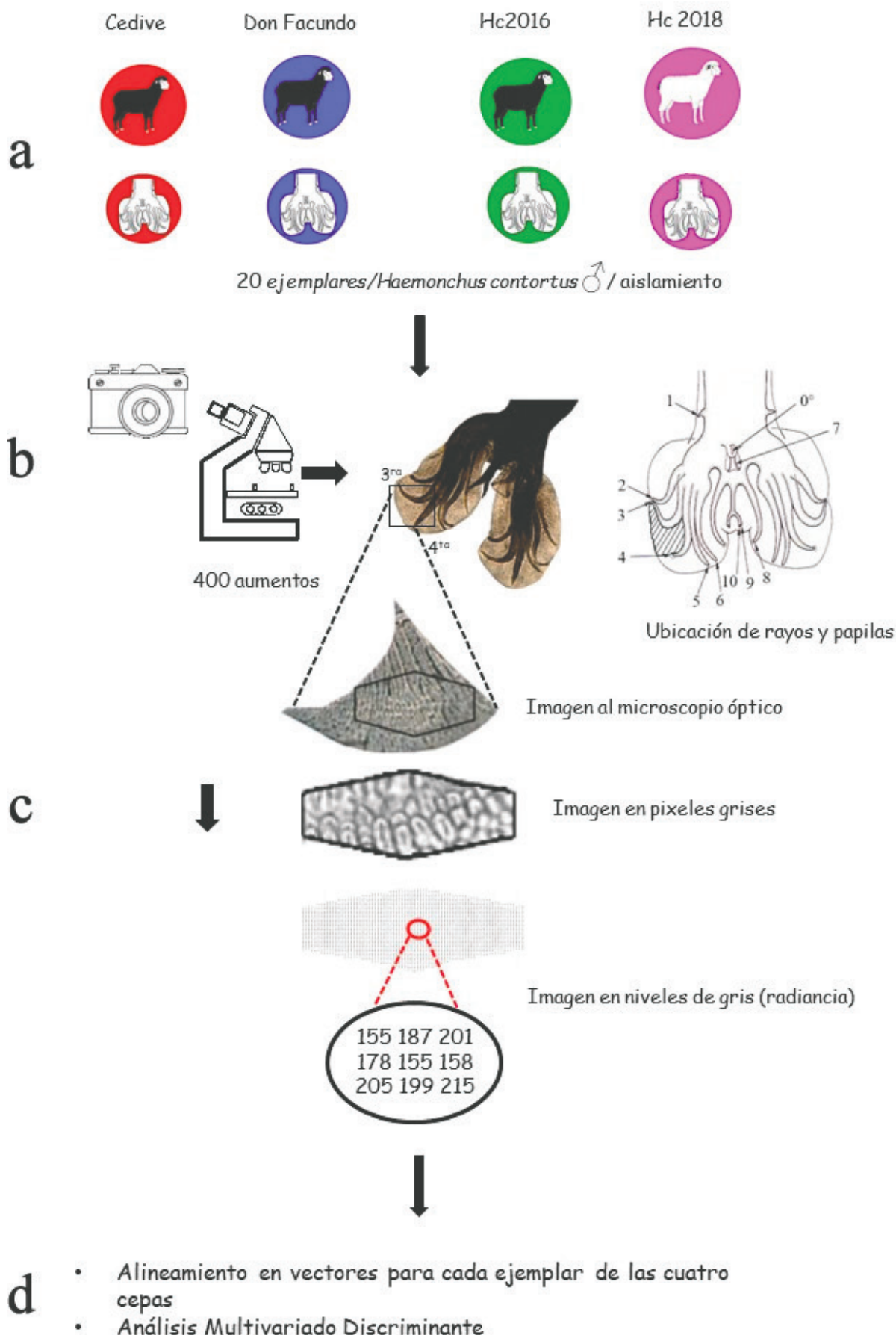


Figura 3. Algoritmo de la metodología para el análisis de la variabilidad en las venaciones de las bolsas copulatrizes de *H. contortus*: a) Aislamientos: CEDIVE, Don Facundo, Hc2016 y Hc2018. b) Microscopía óptica a 400 aumentos, vista ventral de bolsa copulatríz; esquema de bolsa copulatríz con números señalizando los rayos; sector de análisis ubicado entre rayos 3° y 4° del lóbulo derecho. c) Imagen del recorte de venaciones al microscopio óptico; hexágono en pixeles en escala de grises con valores de radiancia. d) Análisis Multivariado Discriminante.

Tabla 1. Caracterizaciones fenotípicas por susceptibilidad a Benzimidazoles y genotípica para el gen del isotipo 1 de β tubulina. TRCH: Test de reducción de la cuenta de huevos. TEC: Test de Eficacia Controlada. S/D: Sin datos.

Aislamiento	TRCH	TEC	Tyr/Tyr (Susceptible)	Phe/Tyr (Resistente)	Phe/Phe (Resistente)
Don Facundo	62,5 % ⁽¹⁾	64,5 % ⁽¹⁾	15,3 % ⁽¹⁾	46,2 % ⁽¹⁾	38,5 % ⁽¹⁾
CEDIVE	100 % ⁽²⁾	100 % ⁽²⁾	86,7 % ⁽¹⁾	13,3 % ⁽¹⁾	(-)
Hc2016	86,8 % ⁽¹⁾	83,2 % ⁽¹⁾	20 % ⁽¹⁾	60 % ⁽¹⁾	20 % ⁽¹⁾
Hc2018	92,3 % ⁽¹⁾	89,6 % ⁽¹⁾	S/D	S/D	S/D

(1) Pruzzo, C, (datos no publicados)

(2) Según Guzmán (2014)

todos los aislamientos fueron caracterizados por pruebas de campo y pruebas moleculares (Guzmán, 2014; Pruzzo, datos no publicados). Las primeras consistieron en: Test de reducción de la cuenta de huevos - TRCH - y Test de eficacia controlada por necropsia -TEC - (según Coles *et al.*, 1992). Las segundas se efectuaron por medio de las técnicas de Sistema de Mutación Refractario a la Amplificación por PCR (ARMS_PCR) para detectar mutaciones del isótopo 1 de β tubulina (SNP 200). La caracterización de resistencia o susceptibilidad de los cuatro aislamientos por pruebas de campo o moleculares puede verse en la Tabla 1.

Biometría de las Venaciones

Las BC de cada nematodo fueron diseccionadas con hoja de afeitar y montadas en portaobjetos para observarlas en vista ventral al microscopio óptico (MO). Luego de la diafanización con una solución de lactofenol (2 partes de glicerina, 1 parte de fenol, 1 parte de ácido láctico y 1 parte de agua) las BC fueron fotografiadas con el sistema color RGB (R: 1.08, G: 1, B: 1.38) bajo MO con 400 aumentos, mediante cámara digital Leica MC 170 HD en formato TIF, con iguales patrones de frecuencia (50 Hz), saturación (209), contraste (100) y gama (0.88). La imagen de las venaciones se tomó en el área comprendida por un cuadrado ubicado entre el tercer y el cuarto rayo del lóbulo derecho (Fig. 3b). Para estudiar la variabilidad y singularidades de las venaciones entre las poblaciones se realizó, en varias etapas, un análisis biométrico por medio de un procesamiento numérico de las imágenes digitales. Con cada imagen digital se practicaron los siguientes pasos: (1) mediante software de edición gráfica se recortaron las imágenes en forma hexagonal con dimensiones de 75 pixeles de ancho por 40 pixeles de alto, obteniéndose un recorte del cuadrado anterior de 3.000 pixeles (Fig. 3c), (2) se ubicaron todos los recortes a un ángulo de 0° con el horizonte, (3) se ajustaron a una resolución de 100 pixeles por pulgada, (4) mediante software MultiSpec 3.1, para cada nematodo, se obtuvieron

40 vectores de radiancia, en valores de pixeles para escala de grises, entre 0 para el negro y 255 para el blanco (Fig. 3c), y (5) con estos vectores se generaron las medias aritméticas de cada una de las 40 líneas de pixeles de cada nematodo que en la siguiente etapa fueron alineadas para cada ejemplar. Luego del paso anterior, la morfología y el recorrido de las venaciones en la BC de cada uno de los nematodos, quedó tipificada en una matriz individual de valores en pixeles de escala de grises. Considerando a las 40 líneas de valores en pixeles de escala de grises como efectoras de fenotipos, conformados por cada una de ellas como covariables aleatorias y considerando a los aislamientos como categorías, se contrastaron los fenotipos de las venaciones de los 80 nematodos -20 por cada aislamiento- por medio de Análisis Multivariado Discriminante (AMD) con el programa JMP 5.1 (Fig. 3d). Con el fin de identificar variables que expliquen singularidades en las venaciones de la BC, el AMD se corrió mediante la opción de Selección de variables paso a paso (*Stepwise variable selection*).

RESULTADOS

A partir del análisis biométrico, por medio del procesamiento en pixeles de escala de grises de las imágenes digitales, se obtuvo el fenotipo de las venaciones de las BC de las cuatro poblaciones de *H. contortus* (Fig. 4). Como muestran el gráfico canónico (Fig. 5), la Tabla de Puntuaciones Discriminantes ([Anexo Fig. 6](#)) y los resultados de la fórmula de Predicción, el AMD de las venaciones clasificó bien al 95% (76/80) del total de individuos en las cuatro poblaciones. Mientras que, para cada aislamiento, por medio de la siguiente ecuación discriminante:

$$ED = 1,797693135e308. \text{ Probabilidad (A). Probabilidad (B). Probabilidad (C). Probabilidad (D),}$$

el AMD discriminó el 95% (19/20), 100 % (20/20), 100 % (20/20) y 85% (17/20) de los orígenes CEDIVE, Don Facundo, Hc2016 y Hc2018 respectivamente.

Los resultados del AMD mostraron un incipiente

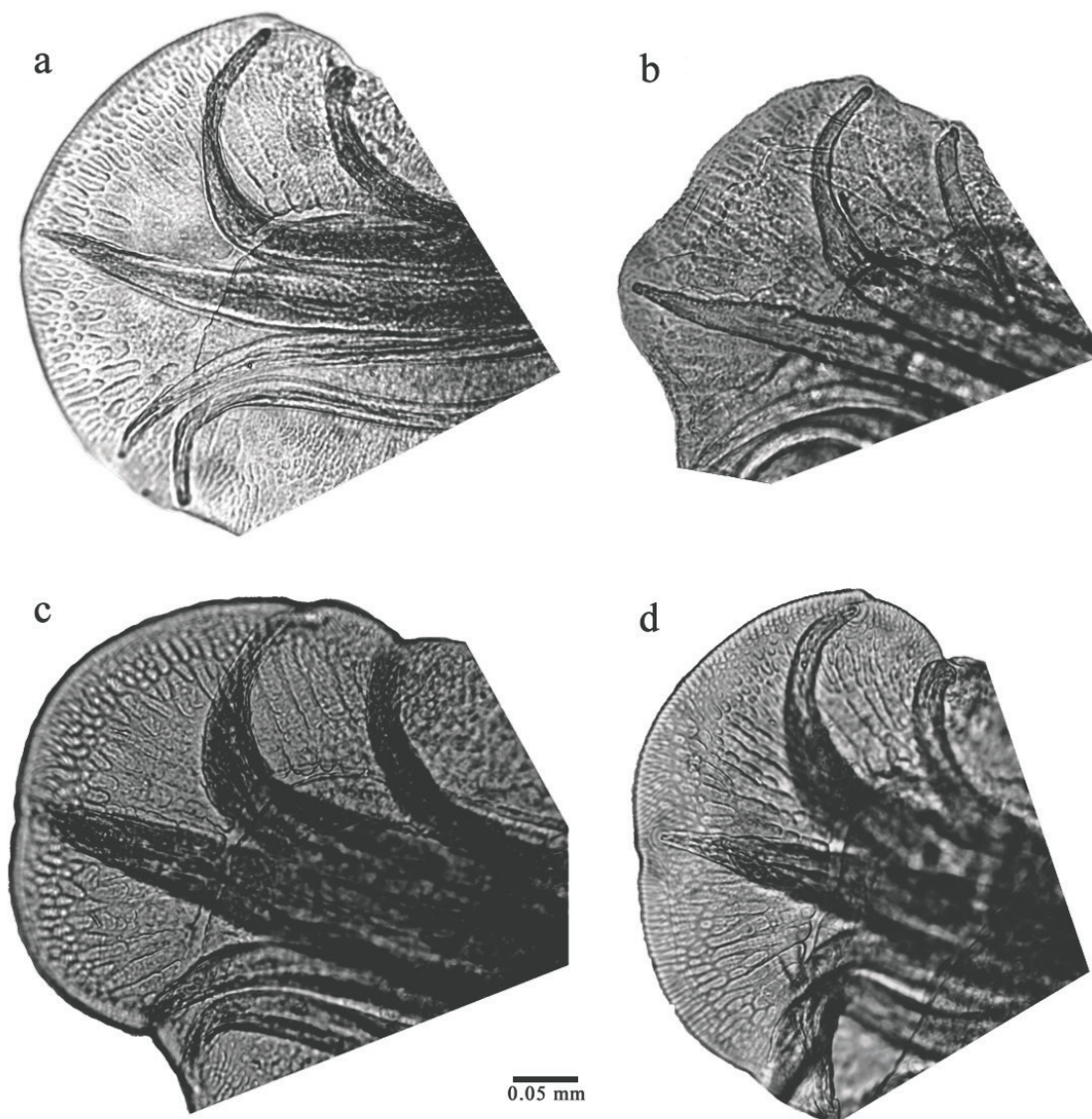


Figura 4. Vista ventral al microscopio óptico a 400 aumentos del lóbulo derecho de las bolsas copulatrices de *H. contortus* de las cuatro poblaciones. a) Aislamiento CEDIVE. b) Aislamiento Don Facundo. c) Aislamiento Hc2016. d). Aislamiento Hc2018.

grado de coherencia con la evolución del proceso de reemplazo de la población Don Facundo, resistente a benzimidazoles, por el aislamiento CEDIVE, susceptible a benzimidazoles. En ese sentido se puede apreciar que la primera población de recambio Hc2016 tuvo su propia singularidad en la morfología de las venaciones comparada con las otras poblaciones, diferenciándose totalmente de su aislamiento de origen (Don Facundo). En cambio, la población Hc2018 derivada de Hc2016 tuvo tres individuos mal clasificados dentro de su aislamiento, que se parecieron más en las venaciones de la BC a la población CEDIVE (Figs. 5, 6).

El análisis del AMD por medio de la opción de Selección paso a paso (*Stepwise variable selection*) de cada una de las 40 variables, visibilizadas a través de las líneas de valores en pixeles de escala de grises, no identificó ninguna variable en particular o zona de las venaciones que tuviera mayor capacidad discriminante que otras para separar los aislamientos.

DISCUSIÓN

El resultado obtenido luego del AMD de las venaciones en las cuatro poblaciones se podría vincular con el carácter evolutivo de la morfología bursal y el synlopho en los Trichostrongyloidea, dentro de los cuales se encuentra la familia Haemonchidae (Durette- Desset, 1985). Si bien aún es compleja la diagnosis por asociación entre morfología y marcadores moleculares en *H. contortus* (Dorris *et al.*, 1999; Ndosí *et al.*, 2023), caracteres como el largo total, la longitud del esófago, el número de crestas cuticulares y su proporción con respecto al cuerpo, se mencionan como diferencias morfológicas significativas que distinguen a las especies de *Haemonchus* (Zarlenga *et al.*, 2016).

En el sentido morfológico, se podrían homologar las diferencias aquí observadas con los cambios hallados por Freeman *et al.* (2003) en los cilios sensoriales de los anfidios de poblaciones de *H. contortus*

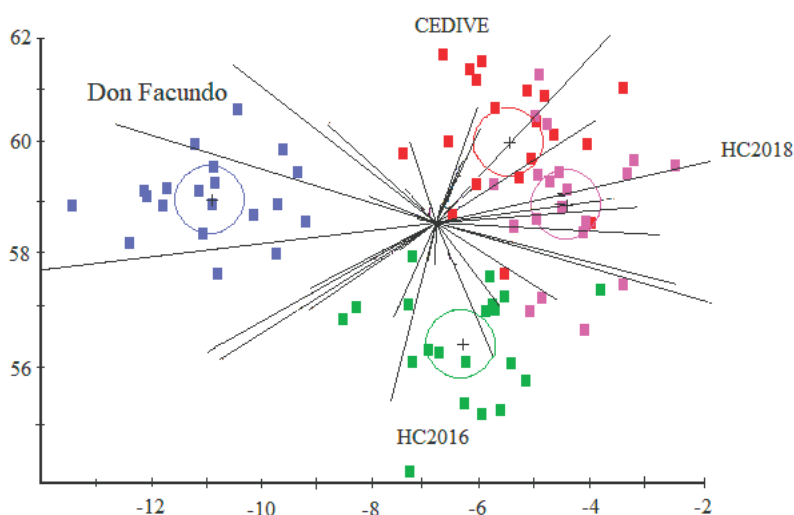


Figura 5. Gráfico canónico de Análisis Multivariado Discriminante en las venaciones de las bolsas copulatrices de *H. contortus*. Referencias: Don Facundo ■ CEDIVE ■ HC16 ■ HC18 ■

resistentes a ivermectina, en un estudio que reveló que los nematodos resistentes a la ivermectina tenían cilios más cortos que sus contrapartes parentales susceptibles. Por otro lado, en el sentido de analizar diferencias entre aislamientos genéticamente divergentes, Sargison *et al.* (2019) observaron que ciertos caracteres morfológicos de *H. contortus*, como el largo de las espículas y los esófagos de los machos en poblaciones susceptibles y resistentes a antihelmínticos (lactonas macrocíclicas, benzimidazoles y salicylanilidas), mostraban una incipiente especiación.

Los resultados de este trabajo permiten concluir acerca de la singularidad en la morfología de las venaciones bursales de *H. contortus* entre las poblaciones analizadas: aislamiento Don Facundo -Resistente a BZ- y aislamiento CEDIVE-Susceptible a BZ, como de los aislamientos Hc2016 y Hc2018, producto de protocolos de reemplazo. Por ello, y si bien sería deseable aumentar el número de poblaciones estudiadas, analizar el fenotipo de *H. contortus* con esta metodología parece ser una herramienta útil que permitiría identificar poblaciones con distintos atributos, entre ellos la resistencia de este nematodo a los benzimidazoles.

AGRADECIMIENTOS

Al propietario y empleados del establecimiento Don Facundo, por abrir sus puertas para realizar el trabajo de reemplazo de poblaciones y obtención de los ejemplares de *H. contortus*.

LITERATURA CITADA

Barrère, V., Falzon, L. C. y Shakya, K. P. (2013). Assessment of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* in sheep flocks in Ontario, Canada: comparison of detection methods for drug resistance. *Veterinary Parasitology*, 198, 159-165.

Bird, F. y Bird, J. (1969). Skeletal Structures and Integument of Acanthocephala and Nematoda. En M. Florkin y B. T. Scheer (Eds.). *Chemical Zoology: Echinodermata, Nematoda, and Acanthocephala* (253-286). Amsterdam: Academic Press.

Campbell, W.C. (1990). Benzimidazoles: veterinary uses. *Parasitology Today*, 6, 130-133.

Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M.A. y Waller, P.J. (1992). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, 44, 35-44.

Conway, D. P. (1964). Variance in effectiveness of thiabendazole against *Haemonchus contortus* in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, 25, 844-845.

Cox, G. N., Kusch, M. y Edgar, R. S. (1981). Cuticle of *Caenorhabditis elegans*: its isolation and partial characterisation. *The Journal of Cell Biology*, 90, 7-17.

Cox, G. N., Shamansky, L. M. y Boisvenue, R. J. (1990). *Haemonchus contortus*: evidence that the 3A3 collagen gene is a member of an evolutionary conserved family of nematode cuticle collagens. *Experimental Parasitology*, 70, 175-185.

Dorris, M. P., Ley, D. y Blaxter, M. L. (1999). Molecular Analysis of Nematode Diversity and the Evolution of Parasitism. *Parasitology Today*, 15, 188-193.

Durette-Desset, M. C. (1985). Trichostrongyloid Nematodes and Their Vertebrate Hosts: Reconstruction of the Phylogeny of a Parasitic Group. *Advances in Parasitology*, 24, 239-303.

Düwel, D., Schmid, K. y Bechmann, G. (1987). Benzimidazole-resistant *Haemonchus contortus* in sheep in West Germany. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 100, 120-123.

Echevarria, F., Borba, M. F. S., Pinheiro, A. C., Waller, P. J. y Hansen, J. W. (1996). The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasite of sheep in Southern 11

- Latin America: Brazil. *Veterinary Parasitology*, 62, 199-206.
- Eckert, J. y Schwarz, R. (1965). Zur Struktur der Cuticula invasionsfähiger Larven einiger Nematoden. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 26, 116-142.
- Emery, D. L., Hunt, P. W. y Le Jambre, L. F. (2016). *Haemonchus contortus*: ¿the then and now, and where to from here? *International Journal for Parasitology*, 46, 755-769.
- Fetterer, R. y Rhoads, M. (1993). Biochemistry of the nematode cuticle: relevance to parasitic nematodes of livestock. *Veterinary Parasitology*, 46, 103-111.
- Flemming, A. J., Shen, Z. Z., Cunha, A., Emmons, S. W. y Leroi, A.M. (2000). Somatic polyploidization and cellular proliferation drive body size evolution in nematodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97, 5285-5290.
- Freeman, A. S., Nghiema, C., Li, J., Ashton, F. T., Guerrero, J., Shoop, W. L. y Schad, G. A. (2003). Amphidial structure of ivermectin-resistant and susceptible laboratory and field strains of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*, 110, 217-226.
- Giudici, C. J. (1999). Correspondances entre les variabilités morphologique et écologique chez le Nématode *Haemonchus placei*, parasite de bovins. Tesis doctoral. Université François Rabelais. France.
- Giudici, C.J., Durette-Desset, M. C., Cabaret, J. (1999). Description of *Haemonchus placei* (Place, 1893) Nematoda, Trichostrongyloidea, Haemonchidae, identification and intra-specific morphologic variability. *Parasite* 6, 333-342.
- Green, P. E., Forsyth, B. A., Rowan, K. J. y Payne, G. (1981). The isolation of a field strain of *Haemonchus contortus* in Queensland showing multiple anthelmintic resistances. *Australian Veterinary Journal*, 57, 79-84.
- Guzmán, M. (2014). Transmisión de *Haemonchus contortus* de ovino a bovino. Estudio de relaciones interespecíficas parásito-hospedador aplicando métodos epidemiológicos y moleculares en cepas resistentes y sensibles a benzimidazoles Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Kwa, M. S. G., Veenstra, J. G. y Roos, M. H. (1994). Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in β tubulin isotype 1. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 63, 299-303.
- Lacey, E. (1988). The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. *International Journal for Parasitology*, 18, 885-936.
- Lacey, E. (1990). Mode of action of benzimidazoles. *Parasitology Today*, 6, 112-115.
- Lanusse, C. E., Alvarez, L. I. y Lifschitz, A. L. (2016). Gaining Insights Into the Pharmacology of Anthelmintics Using *Haemonchus contortus* as a Model Nematode. *Advances in Parasitology*, 93, 465-518.
- Ndosi, B.A., Lee, D., Bia, M.M., Yang, H., Hong, M.J., Seo, S., Park, H. y Eom, K.S. (2023) Morphometry and Molecular Identification of *Haemonchus Cobb*, 1898 (Trichostrongylidae: Nematoda) Isolates from Small Ruminants in Tanzania Based on Mitochondrial *cox 1* and rRNAITS genes. *Journal of Parasitology Research*, 1-10.
- Page, A. P. y Johnstone, I. J. (2007). The cuticle. En Kramer, J. M. y Moerman, D. G. (Eds.). *Wormbook*. The *C. elegans* Research Community. Recuperado en: <http://www.wormbook.org>. Último acceso 7 de mayo 2023.
- Robinson, M., Trudgett, A., Fairweather, I. y McFerran, N. (2002). Benzimidazole binding to *Haemonchus contortus* tubulin: a question of structure. *Trends in Parasitology* 18, 153-154.
- Sargison, N. D.; Redman, E.; Morrison, A.A.; Bartley, D.J.; Jackson, F.; Hoberg, E.; Gilleard, J.S. (2019) Mating barriers between genetically divergent strains of the parasitic nematode *Haemonchus contortus* suggest incipient speciation. *International Journal for Parasitology* 49: 531-540.
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. 2014. Resolución N° 46/2014. Recuperado en: <https://www.argentina.gob.ar/normativa/recurso/24788/dn4238-1968cap32/htm>.
- Smith, K. y Harness, E. (1972). The ultrastructure of the adult stage of *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus placei*. *Parasitology*, 64, 173-179.
- Wood, I.B, Amaral, N.K., Bairden, K., Duncan, J.L., Kassai, T., Malone, Jr, J.B., Pankavich, J.A., Reinecke, R.K., Slocombe, O., Taylor, S.M. y Vercruyse, J. (1995) World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine) *Veterinary Parasitology*, 58, 181-213.
- Zarlenga, D. S., Hoberg, E. P. y Tuo, W. (2016). The Identification of *Haemonchus* Species and Diagnosis of Haemonchosis. En: *Haemonchus contortus* and Haemonchosis - Past, Present and Future Trends. *Advances in Parasitology*, 93, 145-80.

Recibido: 18 de mayo de 2023

Aceptado: 5 de marzo de 2024

Análisis de estimadores no paramétricos en la diversidad de digeneos larvales en *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)

Analysis of nonparametric estimators in the diversity of larval digeneans in *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)

Merlo Matías Javier

RESUMEN: Los estimadores no paramétricos de la riqueza de especies son algunos de los métodos utilizados en el estudio de la biodiversidad. Sin embargo, las comunidades o ensambles de parásitos han recibido poca atención en ese sentido. Por lo tanto, en el presente estudio, se utilizaron datos reales de diversidad estacional de digeneos en el primer hospedador intermediario *Heleobia parchappii* de la laguna Nahuel Rucá (Argentina) para evaluar siete estimadores no paramétricos de riqueza específica. Se analizó su comportamiento y su capacidad para estimar la riqueza de especies utilizando diferentes tamaños de submuestra. Además, se estimó el tamaño mínimo de muestra necesario para incluir todas las especies observadas. Los estimadores Chao 1, Chao 2 y Bootstrap fueron en general los que mejor desempeño tuvieron considerando los criterios de evaluación utilizados. Considerando que la estructura de los ensambles de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario tiene una gran importancia en el cálculo de los estimadores no paramétricos, se propone la utilización de Chao 1 y 2 cuando la proporción de especies raras es mayor al 30%, mientras que, si es menor a este valor se recomienda usar Bootstrap. Además, se sugiere aumentar el número de hospedadores tradicionalmente examinados de 300 a 400 individuos, para poder obtener una medida más precisa de la biodiversidad en estos sistemas.

Palabras clave: biodiversidad, trematodes, laguna pampeana

ABSTRACT: Non-parametric estimators of species richness are some of the extrapolation methods used in the study of biodiversity. However, communities or assemblages of parasites have received little attention. Therefore, in the present study, real data on the seasonal diversity of digeneans in the first intermediate host *Heleobia parchappii* at Nahuel Rucá shallow lake (Argentina) were used to evaluate seven non-parametric estimators of species richness, analyzing their behavior and their ability to estimate richness using different subsample sizes. In addition, the minimum sample size necessary to include all observed species was estimated. The Chao 1, Chao 2 and Bootstrap estimators were generally the best-performing estimators considering the evaluation criteria used. Given the significant role of larval digenean assemblages in the first intermediate host for non-parametric estimator calculations, it is suggested to employ Chao 1 and 2 when the proportion of rare species exceeds 30%. However, if this proportion is less than 30%, the use of Bootstrap is recommended. Furthermore, to obtain a more precise measure of biodiversity in these systems, it is suggested to increase the traditionally examined host number from 300 to 400 individuals.

Keywords: biodiversity, trematodes, pampean shallow lake

INTRODUCCIÓN

La riqueza específica es la forma más sencilla de describir la diversidad de especies o cuantificar el número de especies a una escala local (Mac Nally y Fleishman, 2002; Magurran, 2004). Sin embargo, Gibson *et al.* (2001) y Fleishman *et al.* (2006) consideran que el cálculo de la riqueza específica está influenciado directamente por el esfuerzo de muestreo y, por lo tanto, los estudios que no posean esfuerzos de muestreo similares no serían

comparables. Así, se plantea el interrogante sobre cuán bien es reflejada la “verdadera” diversidad de especies presentes en una comunidad por una muestra de la misma (Hughes *et al.*, 2001).

En respuesta a esta pregunta, en la última década se generaron grandes avances en la comparación y unificación de las distintas métricas de diversidad, así como en el desarrollo de métodos para estandarizar las muestras antes de medir la biodiversidad (Chao y Chiu, 2016; Cox *et al.*, 2017; Chao *et al.*, 2019,

Laboratorio de Ictioparasitología, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Funes 3350, (7600) Mar del Plata, Argentina

Correspondencia: mjmerlo@mdp.edu.ar - ARK CAYCIT: <http://id.caicyt.gov.ar/ark:/s23139862/jwksk58it>

2020). Estas técnicas se pueden agrupar en tres clases: (1) las extrapolaciones de las curvas de acumulación de especies, (2) modelos paramétricos, y (3) estimadores no paramétricos (Magurran, 2004).

El método de extrapolación usa la curva de acumulación de especies observadas para modelar el conteo de nuevas especies con respecto al esfuerzo de muestreo, y el valor de la riqueza es la asíntota de la curva (e.g. modelos de Clench o de Dependencia Lineal) (Palmer, 1990; Soberón y Llorente, 1993). Una desventaja de utilizar extrapolaciones es que se requieren datos provenientes de comunidades suficientemente muestreadas para la predicción del valor asíntótico (Hughes et al., 2001). La estimación mediante modelos paramétricos consiste en ajustar los datos de abundancia relativa de las especies en una muestra, a un modelo matemático como la serie logarítmica o la distribución log-normal (ver revisión en Moreno, 2000). Algunos impedimentos para usar estos métodos paramétricos es que se requieren datos de abundancia relativa de las especies y que se deben hacer suposiciones sobre la verdadera distribución de abundancias en una comunidad (Hughes et al., 2001). Por el contrario, los estimadores no paramétricos utilizan datos de presencia-ausencia o de abundancia de especies y se enfocan en las especies poco abundantes o raras (Colwell y Coddington, 1994; Moreno, 2000). Además, los estimadores no paramétricos presentan dos cualidades importantes: pueden controlar el efecto de un esfuerzo de muestreo desigual y, además, pueden calcular el número de especies "raras" existentes en una muestra y añadir este número a la riqueza de especies observada (Poulin, 1998).

Los estimadores no paramétricos que se han desarrollado son Bootstrap, Jackknife, Chao, ACE, ICE y fueron revisados por Colwell y Coddington (1994) y Chazdon et al. (1998). Al utilizar un estimador no paramétrico se debe evaluar su comportamiento ya que su eficacia puede ser diferente según la riqueza y complejidad del sistema, la proporción del área muestreada y el método de muestreo empleado. Por lo tanto, se han propuesto varios criterios para seleccionar un estimador. Por ejemplo, un buen estimador debe ser insensible al tamaño de muestra, es decir, su curva de acumulación de especies debe tener una tasa de crecimiento inicial alta hasta llegar a una riqueza máxima y a la asíntota; también debe ser insensible al orden de muestreo y a la distribución espacial de las especies (Chazdon et al., 1998; Gotelli y Colwell, 2001). Además, el estimador debe ser eficaz en términos de sesgo (poco sesgado), exactitud y precisión (valor de estimación cercano al valor de la riqueza verdadera) (Palmer, 1990; Chiarucci et al., 2003).

La abundancia de parásitos en una muestra puede estar estrechamente vinculada a factores como el tamaño y la densidad de los hospedadores, así como su distribución geográfica (Walther et al., 1995). Por lo tanto, las pruebas no paramétricas podrían proporcionar una visión más profunda sobre la composición de especies en una comunidad específica, particularmente si el número de hospedadores examinados es limitado o insuficiente, dado que solo las especies con altas prevalencias estarían representadas (Poulin, 1998). Entre las potenciales aplicaciones de los estimadores de riqueza específica se encuentra la capacidad de determinar el tamaño de muestra necesario para obtener una representación sustancial de las especies que componen una comunidad dada. El tamaño mínimo de la muestra requerido por métodos tradicionales puede ser demasiado grande, generando dificultades para el desarrollo de estudios en áreas protegidas con regulaciones estrictas en cuanto a colecta de animales y vegetales, afectando directamente al número de hospedadores que pueden ser muestreados. Así, el uso de los estimadores no paramétricos para el cálculo de la muestra mínima podría permitir una mejor planificación de las tareas de muestreo, contribuir con la conservación del ambiente y reducir costos económicos y de tiempo (tanto en el campo como en el procesamiento de las muestras) para llevar a cabo estudios parasitológicos en zonas con algún tipo de control o de protección.

En la laguna Nahuel Rucá, incluida en el Parque Atlántico Mar Chiquito (Reserva MAB de la UNESCO), habita la especie de gasterópodo *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835) (Cochliopidae) en la cual se registró un máximo de 23 tipos morfológicos de digeneos larvales (Campanini et al., 2022). Los ensamblajes de digeneos larvales en su primer hospedador intermediario (generalmente moluscos) se caracterizan por presentar variaciones temporales y espaciales de la prevalencia y de la riqueza específica (Parietti et al., 2021; Campanini et al., 2022). Entre los factores que pueden regular esta variabilidad se pueden mencionar las condiciones abióticas (temperatura del agua y del aire, altura de la columna del agua, salinidad, etc.), la biología de los hospedadores intermediarios (uso del hábitat, densidad, duración del ciclo de vida, etc.), la biología del hospedador definitivo (diversidad y abundancia, comportamiento, etc.) y las interacciones interespecíficas entre las larvas de digeneos. Sobre estos temas puede consultarse a Paull et al. (2018), Galaktionov et al. (2019), Duan et al. (2021) y Díaz-Morales et al. (2022), entre otros.

Dada esta variación en la prevalencia y la riqueza específica de los ensamblajes de digeneos larvales, el objetivo del presente estudio fue evaluar el

rendimiento (considerando el sesgo, la precisión y la exactitud) de los métodos no paramétricos (NP) para estimar la riqueza específica de digeneos larvales de *H. parchappii*, analizar si los inventarios de diversidad de este grupo están completos, y plantear posibles estrategias en el diseño de futuros muestreos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron datos de un estudio parasitológico que estudió la dinámica temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en 3600 ejemplares (900 por estación) de *H. parchappii* en la laguna Nahuel Rucá (37° 37' S - 57° 25' O) (Merlo, 2014). Los muestreos se realizaron de forma estacional desde el invierno de 2010 hasta el otoño de 2011, la metodología de colecta de los moluscos y la caracterización morfológica de los estadios larvales se encuentran detalladas en Merlo (2014). La laguna Nahuel Rucá cuenta con un afluente (Arroyo Dulce) y desemboca mediante un canal artificial en el Arroyo Sotelo (efluente) y éste, a su vez, desemboca en el cuerpo de agua principal de la laguna costera Mar Chiquita. El espejo de agua presenta un área de 245 ha, una profundidad media de 0,14 ± 0,16 m y una profundidad máxima de 0,8 m (Federman, 2003). En cuanto a la vegetación, se caracteriza por la presencia de juncuales (*Schoenoplectus californicus* (CA Meyer) en sus márgenes, los cuales son utilizados como áreas de cría y descanso de un gran número de especies de aves locales y migratorias (Ferrero, 2001).

Análisis de los datos

Los datos de cada tipo morfológico de cercaria fueron agrupados en una matriz para cada una de las estaciones. Posteriormente, se utilizó el programa "EstimateS" Ver. 9.1 (Colwell, 2009) para calcular la curva de acumulación media de especies para cada conjunto de datos. Este programa calcula los estimadores no paramétricos realizando submuestreos, lo cual consiste en tomar "n" veces (réplicas) 1, 2, ... 900 caracoles (valor máximo de caracoles estudiados por estación) y cuantificar cuántas especies de digeneos están presentes en cada una de esas réplicas.

Para cada esfuerzo de muestreo en cada una de las matrices de datos, se generaron 100 réplicas y se calculó: a) el número de especies observadas (S_{obs}), que es equivalente a la curva de acumulación de especies; b) siete estimadores no paramétricos de riqueza específica (Chao 1, Chao 2, Jack 1, Jack 2, Bootstrap (Boot), ACE e ICE) y, c) número de especies promedio que estuvieron presentes una o dos veces y las especies raras totales (calculada como la suma de las especies que aparecieron una y dos veces) en las 100 réplicas. Para una descripción detallada de estos estimadores, ver Colwell (2009).

En la evaluación del desempeño de los estimadores no paramétricos de riqueza específica se utilizaron tres indicadores: Sesgo, Precisión y Exactitud (Foggo et al., 2003; Walther y Moore, 2005; Schoeman et al., 2008). El Sesgo refleja y cuantifica la tendencia que posee un estimador a sobreestimar o subestimar sistemáticamente la "verdadera" riqueza de especies. En otras palabras, si se extraen de una población un gran número de muestras (aleatoriamente, pero con el mismo diseño de muestreo) del mismo tamaño (igual número de unidades de muestreo en cada uno) y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada uno de estos muestreos, lo que se pregunta este indicador es: ¿cuán cerca del "verdadero" valor de riqueza específica va a estar la media de las estimaciones de la riqueza específica realizadas? (Schoeman et al., 2008). Esto se calcula de la siguiente forma:

$$Sesgo = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - S_{Real})$$

S_{Real} es el número total de especies observadas y S_i ($i=1, 2, \dots, n$) representa la riqueza específica promedio (obtenida de las 100 réplicas) para cada esfuerzo de muestreo. La unidad final en la cual se expresa el sesgo es número de especies.

La Precisión se utiliza para cuantificar la varianza de los resultados estimados. Esta responde a la pregunta: si muchas muestras del mismo tamaño fueron extraídas de la población (al azar, pero usando el mismo diseño de la muestra), y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada una, ¿cuán cerca están estas estimaciones entre sí? (Schoeman et al., 2008). Se calcula utilizando la siguiente fórmula:

$$Precisión = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - \bar{S})^2$$

\bar{S} es el promedio de la riqueza específica estimada para todos los esfuerzos de muestreo y su unidad es número de especies². Esta fórmula depende solo de los valores estimados y no utiliza en ningún momento los valores "verdaderos" de especies observadas, por lo que la precisión por sí sola no puede ser utilizada para evaluar a un estimador (Walther y Moore, 2005).

La Exactitud cuantifica la previsibilidad general de la riqueza calculada por los diferentes estimadores. La pregunta que responde es: si se extraen muchas muestras del mismo tamaño de una población (al azar, pero utilizando el mismo diseño de muestreo), y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada uno, ¿cuán cerca están todas estas estimaciones del verdadero valor de la riqueza de especies? La unidad de la exactitud es número de especies².

$$Exactitud = Precisión + Sesgo^2$$

Walther y Moore (2005) argumentan que no es válido comparar comunidades con distintas cantidades de especies utilizando el Sesgo, la Precisión y la Exactitud como métricas de rendimiento de los estimadores no paramétricos de riqueza específica, dado que el valor de estas métricas depende directamente del número de especies presentes en la comunidad analizada. Estos autores realizaron las siguientes formulaciones de sesgo, precisión y exactitud para estandarizar las medidas, permitiendo la comparación entre sitios. El Sesgo Estándar y la Precisión estándar no presentan unidad y la Exactitud Estándar es expresada como porcentaje.

$$Sesgo\ Est\acute{a}ndar = \frac{1}{n \cdot S_{Real}} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - S_{Real})$$

$$Precisi\acute{o}n\ Est\acute{a}ndar = \frac{100 \cdot \sqrt{Precisi\acute{o}n}}{\bar{S}}$$

$$Exactitud\ Est\acute{a}ndar = \frac{Exactitud}{S_{Real}^2}$$

Considerando que la curva de acumulaci3n de especies crece inicialmente de forma r1pida y luego, el incremento en el n1mero de especies disminuye a medida que se aumenta el esfuerzo de muestreo, los indicadores (Sesgo, Precisi3n y Exactitud Est1ndar) fueron calculados a partir de un tama1o submuestreal de 90 caracoles (10% de la muestra), dado que en ese punto la pendiente de la curva de acumulaci3n comienza a suavizarse, haciendo m1s exactos los c1lculos.

Adem1s, para evaluar los estimadores de riqueza espec1fica se utilizaron tres criterios propuestos por Melo y Froehlich (2001): (1) la menor muestra m1nima necesaria para estimar la riqueza observada en la muestra total; (2) la falta de comportamiento err1tico en la forma de la curva (la curva ideal deber1a ir aumentando el n1mero de especies a medida que aumenta el esfuerzo de muestreo hasta alcanzar un nivel asint3tico, el cual refleja que se alcanz3 el m1ximo de la riqueza) y (3) la similitud entre las formas de las curvas para las cuatro matrices de datos.

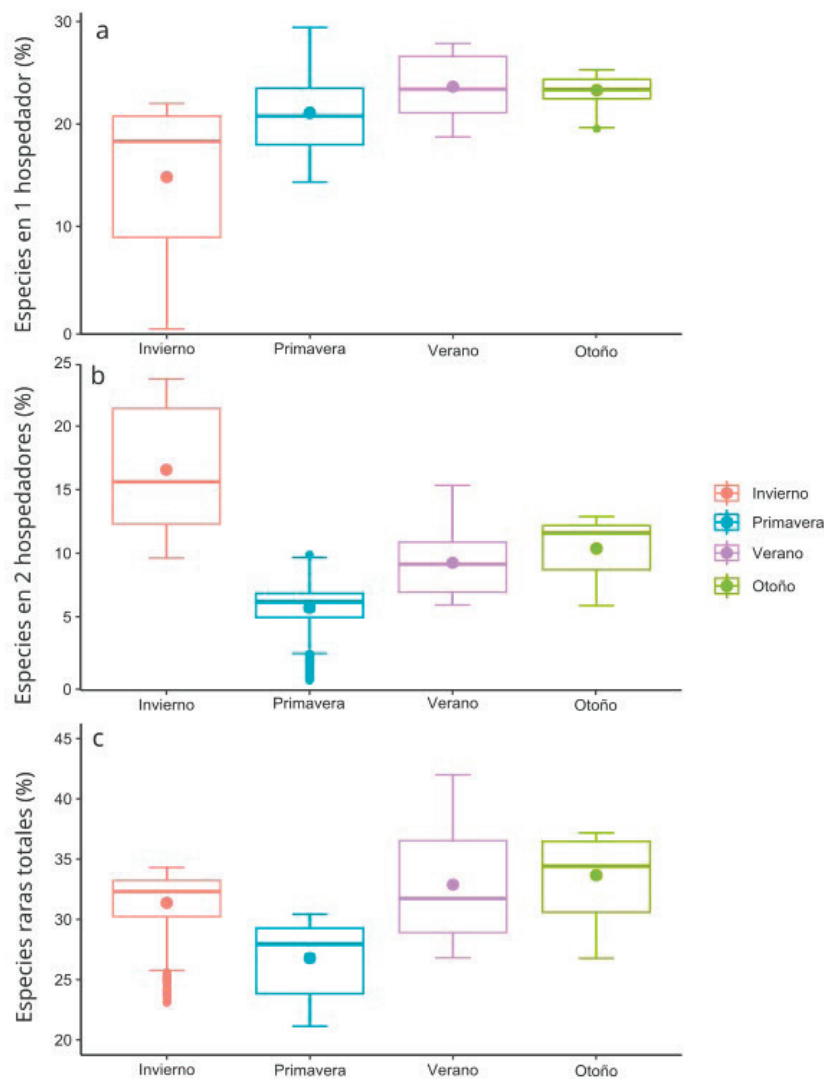


Figura 1. Variaci3n temporal del porcentaje de especies raras presentes en uno (a) o dos hospedadores (b) y especies raras totales (especies en un hospedador + especies en dos hospedadores) (c). Las cajas representan la mediana, cuartiles, m1nimos y m1ximos. El punto representa la media en cada estaci3n.

Tabla 1. Número de especies estimadas y porcentaje de sobreestimación en relación al número de especies observadas (N° Esp Obs) por los estimadores no paramétricos en cada estación.

Estaciones		Estimadores							N° Esp Obs
		ACE	ICE	Chao 1	Chao 2	Jack 1	Jack 2	Boot	
Invierno	N° especies estimadas	14,52	14,39	13,47	13,48	15,47	15,47	13,85	13
	% de sobreestimación	11,69	10,69	3,62	3,69	19,00	19,00	6,54	
Primavera	N° especies estimadas	25,26	24,88	27,28	27,29	26,99	26,99	18,95	17
	% de sobreestimación	48,59	46,35	60,47	60,53	58,76	58,76	11,47	
Verano	N° especies estimadas	19,60	19,35	18,77	18,78	19,45	19,45	16,37	15
	% de sobreestimación	30,67	29,00	25,13	25,20	29,67	29,67	9,13	
Otoño	N° especies estimadas	20,07	19,99	20,23	20,24	24,08	24,08	18,73	17
	% de sobreestimación	18,06	17,59	19,00	19,06	41,65	41,65	10,18	

Se calculó la muestra mínima necesaria para incluir a todas las especies observadas mediante una interpolación lineal del punto de cruce en el cual los estimadores comienzan a sobreestimar la riqueza específica observada (Hellmann y Fowler, 1999).

RESULTADOS

La riqueza específica total observada hallada fue 19, mientras que el número de especies halladas por estación fue 13, 17, 15 y 17 en invierno, primavera, verano y otoño, respectivamente. En la Fig. 1 se observan los valores promedio de las especies que

aparecieron una o dos veces y el total de especies raras, expresados como porcentaje del total de especies observadas, obtenidos al realizar las submuestras y que se utilizan en los cálculos de los estimadores no paramétricos.

En relación a la riqueza específica estimada, en invierno los estimadores Chao 1 y Chao 2 presentaron la mejor estimación de especies, sobreestimando solamente un 3,62 y 3,69 % respectivamente. Sin embargo, los estimadores ACE, ICE y Boot presentaron valores de sobreestimación cercanos al 10%, mientras que Jack 1 y Jack 2 sobreestimaron valores cercanos

Tabla 2. Evaluación del desempeño de los siete estimadores no paramétricos utilizando los indicadores: Sesgo estándar (Ses Est), Precisión estándar (Prec Est) y Exactitud estándar (Exac Est).

Estaciones	Indicadores	Estimadores							
		Sobs	ACE	ICE	Chao 1	Chao 2	Jack 1	Jack 2	Boot
Invierno	Ses Est.	-0,10	0,05	0,05	-0,02	-0,01	0,06	0,06	-0,02
	Prec Est.	11,91	6,56	6,56	6,37	6,27	7,05	10,57	9,77
	Exac Est.	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01
Primavera	Ses Est.	-0,16	0,13	0,11	0,18	0,18	0,04	0,19	-0,08
	Prec Est.	13,38	19,92	19,49	19,11	19,08	14,91	17,70	13,73
	Exac Est.	0,04	0,07	0,06	0,08	0,08	0,03	0,08	0,02
Verano	Ses Est.	-0,13	0,06	0,05	0,04	0,04	0,04	0,14	-0,06
	Prec Est.	11,03	15,15	14,84	10,29	10,26	10,95	11,52	10,56
	Exac Est.	0,03	0,03	0,03	0,02	0,02	0,01	0,04	0,01
Otoño	Ses Est.	-0,17	0,08	0,07	0,01	0,01	0,07	0,19	-0,06
	Prec Est.	16,05	7,56	7,63	10,72	10,60	12,06	10,95	14,03
	Exac Est.	0,05	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,05	0,02

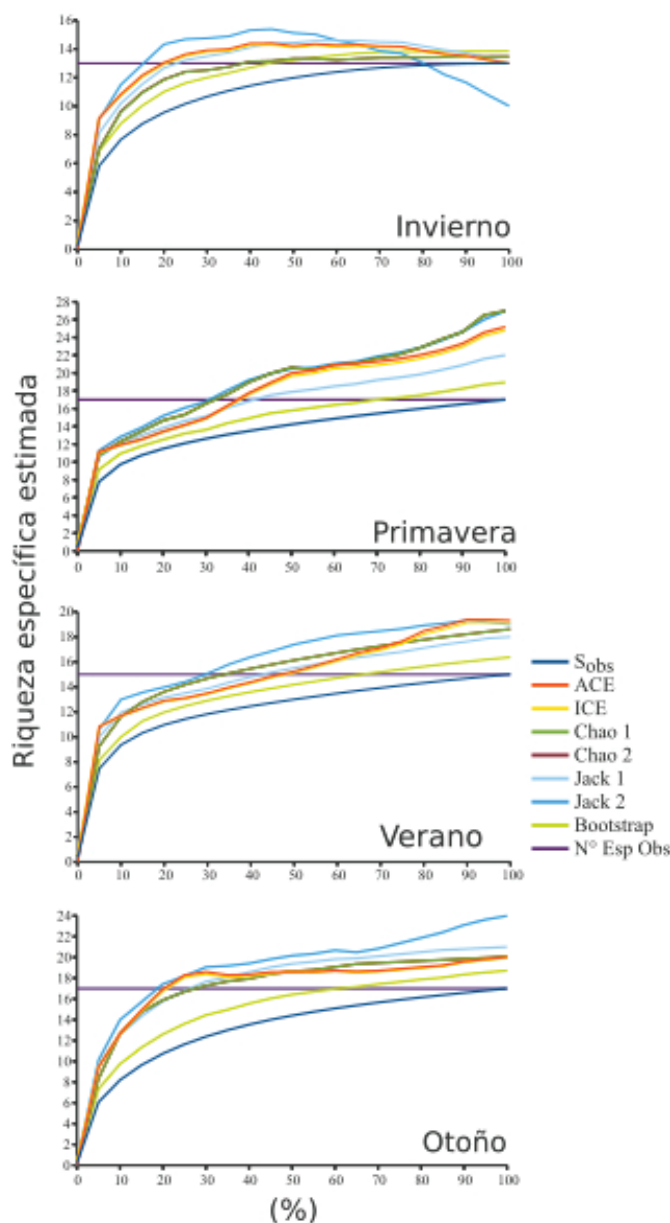


Figura 2. Curvas de acumulación de especies observadas (S_{obs}) y estimadas para cada uno de los siete estimadores no paramétricos. El número total de especies observadas en cada muestra está representado por la línea horizontal (N° Esp Obs).

al 20%. Para el resto de las estaciones, el estimador Boot sobreestimó valores de especies cercanos al 10%, mientras que los demás estimadores presentaron sobreestimaciones de entre el 17,59 y el 60,53% (Tabla 1).

Los estimadores Chao 1 y 2 fueron los menos sesgados, los más precisos y exactos en invierno, verano y otoño. Mientras que Jack 1 y Boot fueron los menos sesgados, los más precisos y exactos en primavera. En general, los estimadores ACE e ICE alternaron entre buenos y malos valores de sesgo, precisión y exactitud dependiendo de la estación estudiada. Finalmente, el estimador Jack 2, en general, presentó los peores valores de sesgo, precisión y exactitud (Tabla 2 y Fig. 2).

Los estimadores que calcularon la menor muestra mínima necesaria para estimar la riqueza observada fueron Jack 1 y 2 en todas las estaciones. Por el contrario, el estimador Boot fue el que calculó la mayor muestra mínima en todas las estaciones. Si bien los estimadores Chao 1 y 2 necesitaron llegar a valores cercanos al 40% de la muestra (360 caracoles para este estudio) para estimar la riqueza observada, fueron los más constantes a lo largo de las cuatro estaciones (Tabla 3 y Fig. 2).

En relación al segundo y tercer criterio propuestos por Melo y Froehlich (2001), los estimadores Chao 1, Chao 2 y Boot presentaron una forma cercana a la ideal en tres de las cuatro estaciones. Chao 1 y 2 tuvieron un comportamiento asintótico en invierno y otoño, no así en verano, pero se aproximaron bastante a éste. Sin embargo, en primavera presentaron un comportamiento errático, como la mayoría de los estimadores. Para Boot, se observó un comportamiento asintótico en invierno y uno casi asintótico en verano y otoño, mientras que en primavera fue el que mejor se comportó. En cuanto a los estimadores Jack 1 y 2, presentaron una forma alejada de la ideal en invierno, mientras que en el resto de las estaciones se comportaron de forma cercana a la ideal sin llegar a un valor asintótico. El desempeño de los estimadores ACE e ICE fue alejado del ideal, y presentaron comportamientos erráticos y sin consistencia entre las estaciones (Fig. 2).

DISCUSIÓN

Los ensamblajes de digeneos larvales en su primer hospedador intermediario se caracterizan por presentar variaciones temporales y espaciales de la prevalencia y riqueza específica (Fernández y Hamann, 2018; Parietti *et al.*, 2021). Estas variaciones se vieron reflejadas en el comportamiento de los estimadores NP, dado que ninguno presentó un desempeño constante en función de los criterios utilizados en su evaluación. Por un lado, todos los estimadores sobreestimaron el número de especies, en algunos casos llegando a valores cercanos al 60% debido a esto no se recomienda su utilización para completar el inventario de especies. Sin embargo, demostraron homogeneidad en el cálculo de la muestra mínima de hospedadores necesaria para detectar una gran proporción de la biodiversidad en este sistema. Por lo tanto, podrían ser considerados como un método adecuado en la definición del esfuerzo de muestreo requerido en estudios comparativos de los ensamblajes de digeneos larvales.

Como se mencionó anteriormente, los estimadores NP han sido utilizados para estimar la biodiversidad de un ambiente que no ha sido muestreado en profundidad o para corregir el efecto del tamaño muestral para comparar la riqueza específica entre ambientes diferentes (Poulin, 1998). Sin embargo,

Tabla 3. Tamaño mínimo de la muestra, medido como porcentaje, requerido por los siete estimadores no paramétricos para estimar la riqueza específica estacional de los ensamblajes de digeneos larvales en *H. parchappii*. \bar{X} (media de los cuatro valores correspondiente a cada estación), SD (desviación estándar).

Estimadores	Tamaño mínimo de la muestras (%)				\bar{X}	SD
	Invierno	Primavera	Verano	Otoño		
Sobs	96,00	99,92	99,92	99,92	98,94	1,96
ACE	20,92	37,17	48,42	20,17	31,67	13,65
ICE	21,08	38,25	49,00	20,33	32,17	13,94
Chao 1	38,08	32,25	39,50	44,08	38,48	4,88
Chao 2	38,08	32,25	39,50	43,92	38,44	4,82
Jack 1	15,25	30,42	29,75	18,50	23,48	7,75
Jack 2	15,25	30,42	29,75	18,50	23,48	7,75
Bootstrap	44,75	69,75	71,83	61,33	61,92	12,31

pocos estudios se han centrado en evaluar el comportamiento de estos estimadores en función de las características de las comunidades observadas (ver: Cao *et al.*, 2004; Walther y Moore, 2005). En particular, Poulin (1998) fue el primero en estudiar el comportamiento de los estimadores Chao, Jack y Boot en organismos parásitos, utilizando datos simulados. En el mismo, sugiere que el uso de estos estimadores podría disminuir los problemas que surgen de las comparaciones de la riqueza de especies entre comunidades de parásitos debidos al desigual esfuerzo de muestreo. Si bien han pasado 25 años de lo propuesto por Poulin (1998) hasta la actualidad solo se han realizado cinco trabajos parasitológicos que evaluaron alguno de los estimadores aquí estudiados: Zelmer y Esch (1999), Romero-Tejeda *et al.* (2008), Merlo *et al.* (2010), Bautista-Hernández *et al.* (2013) y Teitelbaum *et al.* (2020). Zelmer y Esch (1999) utilizaron datos simulados y sugirieron que el mejor estimador era Jack dado que era insensible a la proporción de especies raras. Por su parte, Teitelbaum *et al.* (2020) también utilizaron datos simulados, correspondientes a parásitos de mamíferos, y sugirieron a los estimadores Jack y Chao 2 como los más robustos. Por otro lado, Romero-Tejeda *et al.* (2008) y Bautista-Hernández *et al.* (2013) utilizan datos reales de parásitos de peces; ambos coinciden en que los mejores estimadores son Chao 1 cuando las prevalencias de cada especie de parásito presentan diferencias significativas entre sí y Boot cuando la prevalencia de cada especie de parásito es similar en la población. Estos últimos tres trabajos que se mencionan, llevan a cabo sus análisis agrupando diversas especies de hospedadores y parásitos, sin considerar la estructura propia de cada ensamblaje en un hospedador determinado. Finalmente, Merlo

et al. (2010) utilizan datos reales de digeneos larvales en dos especies de moluscos, y analizan el comportamiento de los estimadores para cada una de ellas, recomendando la utilización de Boot como el mejor estimador. El estudio aquí realizado puede ser comparado con Merlo *et al.* (2010) dado que se utiliza una misma metodología. Los resultados obtenidos sugieren la utilización del estimador Chao en primer y segundo orden y en menor medida el estimador Boot. Dado que los estimadores no paramétricos le otorgan un peso importante a la presencia de especies que aparecen una o dos veces en las muestras (Poulin, 1998), los resultados dispares entre el trabajo de Merlo *et al.* (2010) y el presente podrían deberse a diferencias en la estructura de los ensamblajes parasitarios, los cuales pueden estar regulados por diversos factores. Si bien Merlo *et al.* (2010) no proporcionan información sobre el número de especies raras, a partir de Merlo y Etchegoin (2011) se puede calcular que estas especies alcanzan el 28,57% (ambos trabajos utilizan el mismo set de datos). En el presente estudio, los estimadores Chao 1 y 2 poseen un mejor desempeño cuando el total de las especies raras alcanza valores superiores al 30% (invierno, verano y otoño). Contrariamente, en primavera el total de especies raras tiene un valor promedio cercano al 26% y el mejor estimador fue Boot. En función de que ambos trabajos utilizan una misma metodología, mismo grupo de parásitos y hospedadores relacionados filogenéticamente, se sugiere el uso de Chao 1 y 2 para ensamblajes que presenten un número de especies raras por encima del 30%. El estimador Boot es más conservador en cuanto al número de especies estimadas (Poulin, 1998) y requiere una muestra mínima mayor para obtener una buena proporción de la diversidad de

digeneos. En función de los resultados obtenidos, se recomienda su uso cuando el número de especies que aparecen una o dos veces en las muestras representa menos del 30% o cuando el sistema está pobremente muestreado.

A pesar de que la biodiversidad es un concepto que no se puede reducir a un único número (Magurran, 2004), hay razones que sustentan el uso de la riqueza de especies como un indicador ecológico del estado general de los ecosistemas. La riqueza específica es relativamente fácil de medir, es comparable entre comunidades y es fácil de entender para los investigadores, para las personas que toman las decisiones de políticas ambientales y para el público en general. Pero el número de especies observado depende del tamaño de la muestra y exhibe generalmente un sesgo negativo (subestimación del número de especies) (Colwell y Coddington, 1994; Gotelli y Colwell, 2001). Sin embargo, ¿pueden los estimadores no paramétricos de riqueza específica reducir este sesgo y aumentar la exactitud, incluso con un menor esfuerzo de muestreo? Magurran (2004) sostiene que, a menos que la comunidad se haya muestreado de modo exhaustivo, estas curvas subestimarán también la riqueza específica. Contrariamente a lo enunciado por Magurran (2004), en esta laguna se han realizado dos estudios que analizan la composición y la dinámica temporal y espacial de los ensamblajes de digeneos larvales, el primero durante los años 2010-2013 y el segundo durante los años 2017-2018. En estos análisis, la riqueza específica total arrojó un valor de 22 y 23 especies respectivamente (Merlo, 2014; Campanini et al., 2022), mientras que los estimadores Chao 1 y 2 estimaron una riqueza máxima de 27 morfotipos larvales de digeneos. Esta sobreestimación podría atribuirse a la presencia de especies raras con bajas prevalencias. Por lo tanto, para futuros estudios de los ensamblajes de digeneos larvales en *H. parchappii* se debería examinar un mayor número de hospedadores para aumentar la exactitud en la determinación de la riqueza específica.

Existen varias metodologías sugeridas para determinar el tamaño mínimo de muestra en investigaciones ecológicas relacionadas a los ensamblajes de digeneos larvales que parasitan caracoles como su primer hospedador intermediario. Por ejemplo, Lafferty et al. (1994) y Huspeni et al. (2005) sostienen que 100 caracoles es un buen tamaño mínimo de la muestra, suficiente para producir una pequeña varianza y para estimar la prevalencia. No obstante, el uso de los estimadores de riqueza para el cálculo del tamaño mínimo de la muestra puede resultar en mejores protocolos de planificación y, por consiguiente, en un ahorro en tiempo e inversión económica en el campo (Soberón y Llorente, 1993).

Utilizando los estimadores, Walther y Morand (1998) propusieron detener el muestreo una vez que la variación de la riqueza estimada de especies es < 5% y Chazdon et al. (1998) sugirieron la selección de un tamaño de la muestra que incorpore una porción predeterminada (por el investigador) de la riqueza total de especies. En el presente estudio, se determinó el tamaño mínimo de muestra como el punto en el cual los estimadores comienzan a sobreestimar la riqueza de especies observada. Este último criterio fue utilizado por Poulin (1998), Hellmann y Fowler (1999), Melo y Froehlich (2001) y Merlo et al. (2010). Si se consideran los estimadores Chao 1 y 2 el número mínimo de hospedadores a examinar debería ser entre 290 y 396 y si se considera el estimador Boot deberían ser entre 402 y 646. Sin embargo, teniendo en cuenta que en algunas estaciones los estimadores no llegaron a un valor asintótico, se propone aumentar el número de hospedadores tradicionalmente examinados de 300 a 400 individuos, para poder obtener una medida más precisa de la biodiversidad en estos sistemas.

El uso de estimadores no paramétricos, al emplear métodos estadísticos robustos que no requieren suposiciones específicas sobre la distribución de los datos, facilita la determinación del tamaño de muestra óptimo para obtener una representación precisa de la diversidad de especies. Además, los estimadores NP constituyen una herramienta valiosa para evaluar la efectividad en la captura de la diversidad de especies presentes en un área o momento determinado. Por consiguiente, la incorporación de estos métodos al inicio de las investigaciones permitiría garantizar la validez y fiabilidad de los resultados obtenidos en los estudios comparativos de los ensamblajes de digeneos larvales en su primer hospedador intermediario.

LITERATURA CITADA

- Bautista-Hernández, C. E., Monks, S. y Pulido-Flores, G. (2013). Los parásitos y el estudio de su biodiversidad: Un enfoque sobre los estimadores de la riqueza de especies. *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*, 2, 13-17.
- Campanini, F. P., Merlo, M. J., Casariego, M. A. M. y Parietti, M. (2022). Diversity and dynamics in larval digenean assemblages parasitizing *Heleobia parchappii* in a freshwater shallow lake from the Southeastern Pampa plain, Argentina. *Parasitology*, 149, 347-355.
- Cao, Y., Larsen, D. P. y White, D. (2004). Estimating regional species richness using a limited number of survey units. *Écoscience*, 11, 23-25. <https://doi.org/10.1080/11956860.2004.11682806>
- Chao, A. y Chiu, C. H. (2016). Species richness: Estimation and comparison. *Wiley StatsRef: statistics reference online*, 1, 26.
- Chao, A., Colwell, R. K., Gotelli, N. J. y Thorn, S. (2019). Proportional mixture of two rarefaction/extrapolation

- curves to forecast biodiversity changes under landscape transformation. *Ecology Letters*, 22, 1913-1922. <https://doi.org/10.1111/ele.13322>
- Chao, A., Kubota, Y., Zelený, D., Chiu, C. H., Li, C. F., Kusumoto, B., Yasuhara, M., Thorn, S., Wei, C. L., Costello, M. J. y Colwell, R. K. (2020). Quantifying sample completeness and comparing diversities among assemblages. *Ecological Research*, 35, 292-314. <https://doi.org/10.1111/1440-1703.12102>
- Chazdon, R. L., Colwell, R. K., Denslow, J. S. y Guariguata, M. R. (1998). Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forests of northeastern Costa Rica. . En: F. Dallmeier y J.A.Comiskey, (Eds.). *Man and the Biosphere Series Vol. 20. Forest biodiversity research, monitoring and modeling: conceptual background and old world case studies (285-309)*. Paris: UNESCO. <http://192.156.137.192/handle/10568/17965>
- Chiarucci, A., Enright, N. J., Perry, G. L. W., Miller, B. P. y Lamont, B. B. (2003). Performance of nonparametric species richness estimators in a high diversity plant community. *Diversity and Distributions*, 9, 283-295.
- Colwell, R. K. (2009) EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species from samples, version 9.1. User's guide and application. <http://purl.oclc.org/estimates>
- Colwell, R. K. y Coddington, J. (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 345, 101-118.
- Cox, K. D., Black, M. J., Filip, N., Miller, M. R., Mohns, K., Mortimor, J., Freitas, T. R., Greiter Loerzer, R., Gerwing, T. G., Juanes, F. y Dudas, S. E. (2017). Community assessment techniques and the implications for rarefaction and extrapolation with Hill numbers. *Ecology and Evolution*, 7, 11213-11226. <https://doi.org/10.1002/ece3.3580>
- Díaz-Morales, D. M., Bommarito, C., Vajedsamiei, J., Grabner, D. S., Rilov, G., Wahl, M. y Sures, B. (2022). Heat sensitivity of first host and cercariae may restrict parasite transmission in a warming sea. *Scientific Reports*, 12, Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05139-5>
- Duan, Y., Al-Jubury, A., Kania, P. W. y Buchmann, K. (2021). Trematode diversity reflecting the community structure of Danish freshwater systems: Molecular clues. *Parasites & Vectors*, 14, 1-15.
- Federman, M. (2003). Mapeo y caracterización de la comunidad de macrófitas en tres lagos someros del Sudeste Bonaerense (Tesis de Grado). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- Fernández, M. V. y Hamann, M. I. (2018). Larval digenean communities in *Biomphalaria* species in two contrasting wetlands from South America. *Diseases of Aquatic Organisms*, 130, 159-164. <https://doi.org/10.3354/dao03256>
- Ferrero, L. (2001). Avifauna de Mar Chiquita (Síntesis del trabajo de Mariano M. Martínez). En: Iribarne, O.O. (Ed.). *Reserva de Biosfera Mar Chiquita: Características físicas, biológicas y ecológicas*. Editorial Martín. Mar del Plata, Argentina
- Fleishman, E., Noss, R. F. y Noon, B. R. (2006). Utility and limitations of species richness metrics for conservation planning. *Ecological Indicators*, 6, 543-553.
- Foggo, A., Attrill, M. J., Frost, M. T. y Rowden, A. A. (2003). Estimating marine species richness: An evaluation of six extrapolative techniques. *Marine Ecology Progress Series*, 248, 15-26. <https://doi.org/doi:10.3354/meps248015>
- Galaktionov, K. V., Nikolaev, K. E., Aristov, D. A., Levakin, I. A. y Kozminsky, E. V. (2019). Parasites on the edge: patterns of trematode transmission in the Arctic intertidal at the Pechora Sea (South-Eastern Barents Sea). *Polar Biology*, 42, 1719-1737. <https://doi.org/10.1007/s00300-018-2413-3>
- Gibson, R., Barnes, M. y Atkinson, R. (2001). Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species. *Oceanography and Marine Biology*, 9, 207-231.
- Gotelli, N. J. y Colwell, R. K. (2001). Quantifying biodiversity: Procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters*, 4, 379-391.
- Hellmann, J. J. y Fowler, G. W. (1999). Bias, precision, and accuracy of four measures of species richness. *Ecological Applications*, 9, 824-834.
- Hughes, J. B., Hellmann, J. J., Ricketts, T. H. y Bohannan, B. J. M. (2001). Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 4399-4406. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.10.4399-4406.2001>
- Huspeni, T. C., Hechinger, R. F. y Lafferty, K. D. (2005). Trematode parasites as estuarine indicators: Opportunities, applications and comparisons with conventional community approaches. En S. A. Bortone (Ed.). *Estuarine indicators (297-314)*. Boca Raton: CRC Press.
- Lafferty, K. D., Sammond, D. T. y Kuris, A. M. (1994). Analysis of larval trematode communities. *Ecology*, 75, 2275-2285. <https://doi.org/10.2307/1940883>
- Mac Nally, R. y Fleishman, E. (2002). Using "indicator" species to model species richness: model development and predictions. *Ecological Application*, 12, 79-92. [https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2002\)012\[0079:U1STMS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/1051-0761(2002)012[0079:U1STMS]2.0.CO;2)
- Magurran, A. E. (2004). *Ecological Diversity and its Measurement*. Princeton: Princeton University Press.
- Melo, A. S. y Froehlich, C. G. (2001). Evaluation of methods for estimating macroinvertebrate species richness using individual stones in tropical streams. *Freshwater Biology*, 46, 711-721. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2427.2001.00709.x>

- Merlo, M. J. (2014) Ecología de las comunidades de digeneos larvales en hospedadores moluscos del género *Heleobia* Stimpson, 1865 (Gastropoda: Rissooidea) (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina.
- Merlo, M. J. y Etchegoin, J. A. (2011). Testing temporal stability of the larval digenean community in *Heleobia conexa* (Mollusca: Cochliopidae) and its possible use as an indicator of environmental fluctuations. *Parasitology*, 138, 249-256.
- Merlo, M. J., Parietti, M. y Etchegoin, J. A. (2010). Evaluation of species richness estimators in studies of diversity involving two larval digenean communities parasitizing snail hosts. *Parasitology Research*, 107, 1093-1102.
- Moreno, C. E. (2000). Métodos para medir la biodiversidad. Manuales y Tesis SEA, vol. 1. Zaragoza: Sociedad Entomológica Aragonesa.
- Palmer, M. W. (1990). The estimation of species richness by extrapolation. *Ecology*, 71, 1195-1198.
- Parietti, M., Merlo, M. J. y Etchegoin, J. A. (2021). Effects of droughts on the larval digenean assemblage that parasitizes the snail *Biomphalaria peregrina* (Planorbidae): A 4-year study in a temporary pond from Argentina. *Parasitology Research*, 120, 1909-1914. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07110-1>
- Paull, S. H. y Johnson, P. T. (2018). How Temperature, Pond-Drying, and Nutrients Influence Parasite Infection and Pathology. *EcoHealth*, 15, 396-408.
- Poulin, R. (1998). Comparison of three estimators of species richness in parasite component communities. *Journal of Parasitology*, 84, 485-490. <https://doi.org/doi:10.2307/3284710>
- Romero-Tejeda, M. de la L., García-Prieto, L., Garrido-Olvera, L. y Pérez-Ponce de León, G. (2008). Estimation of the endohelminth parasite species richness in freshwater fishes from La Mintzita reservoir, Michoacán, Mexico. *Journal of Parasitology*, 94, 288-292.
- Schoeman, D. S., Nel, R. y Goulart Soares, A. (2008). Measuring species richness on sandy beach transects: Extrapolative estimators and their implications for sampling effort. *Marine Ecology*, 29, 134-149. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2008.00223.x>
- Soberón, M., J. y Llorente, J. (1993). The use of species accumulation functions for the prediction of species richness. *Conservation Biology*, 7, 480-488. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1993.07030480.x>
- Teitelbaum, C. S., Amoroso, C. R., Huang, S., Davies, T. J., Rushmore, J., Drake, J. M., Stephens, P. R., Byers, J. E., Majewska, A. A. y Nunn, C. L. (2020). A comparison of diversity estimators applied to a database of host-parasite associations. *Ecography*, 43, 1316-1328. <https://doi.org/10.1111/ecog.05143>
- Walther, B. A., Cotgreave, P., Price, R. D., Gregory, R. D. y Clayton, D. H. (1995). Sampling Effort and Parasite Species Richness. *Parasitology Today*, 11, 306-309. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(95\)80047-6](https://doi.org/10.1016/0169-4758(95)80047-6)
- Walther, B. A. y Morand, S. (1998). Comparative performance of species richness estimation methods. *Parasitology*, 116, 395-405. <https://doi.org/doi:10.1017/S0031182097002230>
- Walther, B. A. y Moore, J. L. (2005). The concepts of bias, precision and accuracy, and their use in testing the performance of species richness estimators, with a literature review of estimator performance. *Ecography*, 28, 815-829. <https://doi.org/10.1111/j.2005.0906-7590.04112.x>
- Zelmer, D. A. y Esch, G. W. (1999). Robust estimation of parasite component community richness. *Journal of Parasitology*, 85, 592-594.

Recibido: 23 de octubre de 2023
 Aceptado: 27 de diciembre de 2023

1° SIMPOSIO MENDOCINO DE LEISHMANIASIS CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO, ABORDAJE CLÍNICO, NOTIFICACIÓN Y VIGILANCIA

La leishmaniasis es un grupo de zoonosis parasitarias causadas por protozoos intracelulares del género *Leishmania*. Dicha zoonosis es endémica en nueve provincias del norte de la República Argentina ubicadas entre 22°21'S, 64°39'O y 28°22'S, 65°21'O. La provincia de Mendoza se encuentra a más de 600 km de distancia de su región de transmisión, por lo cual esta enfermedad es exótica en la provincia y en casos previamente reportados en la literatura, se pone en evidencia cómo el sistema de salud provincial no ha podido establecer su diagnóstico con precisión.

Uno de los principales desafíos en el abordaje de la leishmaniasis en la provincia de Mendoza, radica en su diagnóstico temprano y preciso, dado que las lesiones cutáneas pueden confundirse con otras afecciones dermatológicas. Para abordar esta preocupación y mejorar la detección temprana y el manejo de la leishmaniasis se organizó, desde la Facultad de Ciencias Médicas (FCM) de la Universidad Nacional de Cuyo (UNCuyo) y el Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo (IMBECU) CCT-Mendoza CONICET, el **1° Simposio Mendocino de Leishmaniasis**. El objetivo general de este encuentro fue sensibilizar al personal de salud respecto de las diversas dimensiones de las leishmaniasis en el país y en la provincia, para garantizar un diagnóstico certero, de calidad, y un tratamiento oportuno.

Para cumplir con dicho objetivo general se plantearon cinco objetivos específicos.

1. Actualizar los conocimientos sobre las leishmaniasis y su situación regional y nacional,
2. Reconocer los aspectos clínicos de la leishmaniasis,
3. Proveer una actualización de las técnicas estandarizadas para la toma de muestra y diagnóstico,
4. Reconocer los sistemas de notificación y vigilancia en salud y su utilidad en la gestión sanitaria,
5. Coordinar actividades prácticas complementarias al Simposio.

El encuentro tuvo lugar el 22 de marzo de 2024 en la FCM/UNCuyo, participaron más de 100 asistentes entre personal sanitario de la provincia de Mendoza y estudiantes avanzados de diferentes carreras. El programa fue desarrollado por referentes provinciales y nacionales. Por la provincia de Mendoza participó



Evento

1° Simposio Mendocino de Leishmaniasis

Criterios de diagnóstico, abordaje clínico, notificación y vigilancia de leishmaniasis en Argentina

22 de marzo de 2024
Aula Magna Amadeo Cicchitti
FCM UNCUYO

Coordina: Dr. Diego E. Cargnelutti
Más información:
bit.ly/simposio-leishmaniasis

ORGANIZAN



APOYAN



el Dr. Diego Esteban Cargnelutti de la FCM/UNCuyo - IMBECU/CCT-Mendoza CONICET, el bioquímico Sergio Bonti del Laboratorio de Referencia de Enfermedades Transmisibles - Centro de Medicina Preventiva Dr. E. Coni, la bioquímica Viviana Leiva del Laboratorio de Salud Pública del Ministerio de Salud y Deportes, y la médica Carla Chessé del Servicio de Dermatología del Hospital Luis Lagomaggiore. Como referentes nacionales participaron la Dra. Victoria Fragueiro Frías, la Dra. Julieta Alcain, la Lic. Agustina Gioco y la médica Marisa Fernández del Departamento Clínica, Patología y Tratamiento del Instituto Nacional de Parasitología (INP) "Dr. Mario Fatala Chaben", de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" (ANLIS).



Los disertantes desarrollaron ocho seminarios:

- Aportes científicos-académicos y asistenciales desde la FCM/UNCuyo - IMBECU/CCT-Mendoza CONICET (Dr. Cargnelutti),

- Situación nacional de las leishmaniasis / técnicas de diagnóstico programáticas de leishmaniasis (Dra. Fraguero Frías),

- Diagnóstico por PCR y tipificación de parásitos circulantes en Argentina, ¿Hacia dónde vamos? (Dra. Alcain),

- Consideraciones para una clínica ampliada con enfoque socioambiental (Lic. Gieco),

- Abordaje clínico, tratamiento y notificación de las leishmaniasis (Méd. Fernández),

- Situación de la leishmaniasis en la provincia de Mendoza (Bioq. Bonti),

- Puntos claves para una correcta notificación al SNVS (Bioq. Leiva),

- Presentación de casos clínicos abordados en la provincia de Mendoza (Méd. Chessé),

A partir de las exposiciones se conformó la Red Mendocina para el Diagnóstico de Leishmaniasis (RMDL), en el ámbito de la Red Nacional de Diagnóstico de Leishmaniasis coordinada por el INP (ANLIS). La RMDL estará constituida por la FCM/UNCuyo - IMBECU/CCT-Mendoza CONICET (STAN #4248), el Laboratorio de Referencia de Enfermedades Transmisibles - Centro de Medicina Preventiva Dr. E. Coni y el Laboratorio de Salud Pública del Ministerio de Salud y Deportes de la provincia de Mendoza.

La provincia de Mendoza, conocida por su industria vitivinícola y por albergar en su geografía a la montaña más alta del continente americano, enfrenta el desafío de abordar la expansión de las leishmaniasis en el Cono Sur, fenómeno que se atribuye en parte a los movimientos migratorios.

En el seminario presentado por la Lic. Gieco del INP/ANLIS, se abordó la investigación etnográfica realizada

por la Dra. Marta Moreno en los territorios agrícolas de Mendoza entre los años 2009 y 2018, con el propósito de examinar el impacto de los movimientos migratorios de trabajadores bolivianos hacia ciertas áreas rurales de la provincia. Los casos sospechosos/confirmados de leishmaniasis en la provincia y registrados en el Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA) son importados y la mayoría registrados en la comunidad boliviana. En base a estas observaciones y al trabajo de Moreno, desde el INP se propone como perspectivas de trabajo la búsqueda activa de casos en las regiones del Cordón del Plata (Tupungato), Ugarteche (Luján de Cuyo) y 25 de Mayo (Maipú).

La vinculación tecnológica entre instituciones académicas, organismos de salud pública y la comunidad local es esencial para abordar de manera integral este problema de salud emergente. Esto podría implicar campañas de sensibilización, programas de identificación vectorial, capacitación de profesionales de la salud y la implementación de medidas preventivas en áreas de riesgo.

Quiero agradecer el compromiso y dedicación del Comité Organizador del 1° Simposio Mendocino de Leishmaniasis (Viviana Parra, Liliana Carrizo, Roberto Mera y Sierra, Juan Abarca, Andrea Falaschi, Carlos Espul, Sergio Bonti, Viviana Leiva, Roque D'Anna, Esteban Lozano, Victoria Arrieta y Victoria Fragueiro Frías) que posibilitó generar un evento científico de calidad.

Dr. Diego Esteban Cargnelutti

Área de Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Cuyo
Instituto de Medicina y Biología Experimental de Cuyo
CCT-Mendoza CONICET
Mendoza - Argentina
diegocargnelutti@hotmail.com

Parasitofauna de vizcacha (*Lagostomus maximus*) en la Argentina: Taxonomía y evaluación de especies parásitas como biomarcadoras del ambiente y el riesgo sanitario

Victoria Canova (victoriac@cepave.edu.ar)

Título Obtenido: Doctora en Ciencias Naturales

Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata

Fecha de defensa: 11 de julio de 2023

Directores: Dra. María del Rosario Robles y Dr. Agustín M. Abba

Miembros del Tribunal Evaluador: Dr. Daniel Tanzola, Dra. Francisca Milano y Dra. Fernanda Achinelly

RESUMEN: Los parásitos comprenden una parte significativa de la biodiversidad del planeta, y aunque el número total de especies resulta desconocido, se estima que entre 30 y 50% de las especies de animales conocidas son parásitos. De este porcentaje, solo una pequeña proporción incluye parásitos de importancia médica o veterinaria, mientras que la gran mayoría es reconocida como una parte importante de los ecosistemas. En este marco, el estudio de la diversidad de parásitos proporciona información sobre la historia y la biogeografía de otros organismos, sobre las estructuras de los ecosistemas y sobre los procesos detrás de la diversificación de la vida. Asimismo, el uso de parásitos como etiquetas o marcadores biológicos ha sido ampliamente aceptado para la discriminación de poblaciones, como indicadores de contaminación ambiental e impacto antrópico, para comprender la biología de su hospedador, su comportamiento alimentario, movimientos, relación entre poblaciones, filogenias, entre otros.

El objetivo del presente trabajo de tesis fue analizar y comparar la fauna de parásitos asociada a poblaciones de vizcachas (*Lagostomus maximus*) de distintas áreas de Argentina con diferentes características ambientales, para intentar predecir patrones de asociaciones parásito/hospedador/ambiente y detectar especies parásitas de posible riesgo zoonótico. Para esto, se analizaron diferentes tejidos y órganos de 72 especímenes de vizcachas procedentes de cuatro sitios de muestreo, donaciones, decomisos y material de colección.

Mediante diferentes técnicas parasitológicas se realizaron estudios taxonómicos e identificaron miembros de los siguientes grupos parasitarios: Apicomplexa (tres), nematodos (ocho) y cestodos (tres). Entre estos taxa, uno es zoonótico (*Toxoplasma gondii*), y otros tres se consideran potencialmente zoonóticos (*Cryptosporidium* sp., *Sarcocystis* spp. y *Trichuris* sp.). Para todas las especies parásitas halladas se aportan datos morfológicos, moleculares y de distribución geográfica. Los estudios moleculares incluyeron una exploración filogenética de los helmintos más frecuentes, indicando posibles patrones de correspondencia entre los grupos formados (similitud genética) y las poblaciones hospedadoras.

Se evaluaron las poblaciones y comunidades parasitarias en cuatro sitios de muestreo con características ambientales contrastantes: dos en la provincia de Buenos Aires (ECAS -Estación de Cría de Animales Silvestres- y SOBA -Sudoeste de la provincia de Buenos Aires-), uno en Entre Ríos -Estancia Palmira de Carpinchorí-, y otro en Santiago del Estero -Estancia Los Quebrachitos-. Estos análisis se realizaron en los niveles de comunidad componente, infracomunidad y población componente, mediante la aplicación de diferentes análisis y tests estadísticos. Muchos de los resultados mostraron diferencias significativas en los tres niveles de análisis que permitieron diferenciar y caracterizar a los cuatro sitios de muestreo considerados. Además, se pudo observar que los helmintos que mayor influencia tuvieron en la separación de los sitios de muestreo fueron los nematodos *Graphidioides* spp., *Lagostonema ecasiense* y *Viannella* cf. *viscaciae*, pudiendo actuar estas especies como marcadoras de distintas poblaciones de *L. maximus*.

Por otro lado, se evaluaron las cargas parasitarias en relación a características de los hospedadores. En este sentido, se consideró el número total de parásitos (NTP) de todas las vizcachas analizadas (n=72), y el sexo, peso, largo del tracto digestivo y largo del cuerpo de los hospedadores. En relación al sexo de los hospedadores no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre machos y hembras. En relación a las otras variables, si bien se encontraron correlaciones positivas con el NTP, las mismas fueron bajas.

Finalmente, los datos parasitológicos se evaluaron en relación a características ambientales, como cobertura de suelo (desnudo/urbanizado), distintos tipos de vegetación y agua. En este marco, se pudo observar que Entre Ríos -que presentó la menor cobertura de suelo desnudo/urbanizado, una gran cobertura de vegetación principalmente herbácea y arbustiva, y una importante cobertura de agua-, se asoció con los mayores valores de abundancia, riqueza y diversidad parasitarias. Por el contrario, ECAS -que presentó la mayor cobertura de suelo desnudo/urbanizado y de vegetación arbórea (bosque)-, se asoció con la menor riqueza de especies junto con una alta equitatividad. Si bien no se puede determinar de qué manera o en qué medida influyen estas características ambientales, el escenario observado en la ECAS pareciera estar relacionado al contexto ambiental de semicautividad que lo caracteriza.

Esta tesis implica un avance significativo en el conocimiento de la fauna parasitaria de *L. maximus*, destacando la importancia de profundizar en el conocimiento de las parasitosis de diferentes hospedadores silvestres, tanto desde el enfoque de la biodiversidad como el de aspectos de importancia sanitaria, para lo cual es necesario una mejor comprensión de la distribución de las especies, la epidemiología, los mecanismos de transmisión al hombre, el diagnóstico, la prevención y el control de las mismas.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

REVISTA ARGENTINA DE PARASITOLOGÍA

(Órgano de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina)

ISSN 2313-9862

La *Asociación Parasitológica Argentina (APA)* es una Institución Científica sin fines de lucro con Personería Jurídica (Folio de Inscripción 24264, Resolución DPPJ: 0113) y es Miembro de la World Federation of Parasitologists (WFP) y de la Federación Latinoamericana de Parasitología (FLAP). Su objetivo es reunir a la comunidad científica interesada en el estudio y en el desarrollo de la Parasitología en las distintas disciplinas que estudian a los parásitos tales como Medicina, Bioquímica, Veterinaria y Biología, propiciando su permanente contacto y comunicación y promocionando reuniones periódicas, conferencias, foros de discusión, cursos, simposios y talleres.

La *Revista Argentina de Parasitología (RAP- abreviatura Rev. Arg. Parasitol.)*, órgano oficial de difusión científica de la Asociación Parasitológica Argentina, tiene el objetivo de difundir trabajos científicos relacionados con la Parasitología en todas sus Áreas. Procura de este modo, generar un espacio donde se den a conocer los avances de las diferentes líneas de investigación a nivel nacional e internacional, y se propicien los intercambios de experiencias de trabajo. De esta manera contribuye a la promoción, la difusión y el asesoramiento referidos a aspectos de su competencia: *propiciar un enfoque multidisciplinario de la Parasitología en nuestro país y para todo el mundo.*

Se reciben artículos científicos en todos los campos teóricos y aplicados de la Parasitología. Los manuscritos, en español o inglés, son sometidos a evaluación de pares con la modalidad doble ciego, participando un sistema de Editores Asociados y revisores especialistas de reconocida trayectoria nacional e internacional en la temática pertinente.

La revista es semestral, de publicación gratuita, de acceso abierto y se descarga a través de la página: www.revargparasitologia.com.ar o bien de la web de la APA: www.apargentina.org.ar

La Revista Argentina de Parasitología se sostiene con fondos de la APA, los cuales provienen principalmente del pago de cuotas societarias. De este modo, si bien no es condición para publicar, invitamos a todos los autores a formar parte de la Asociación.

1. CONTENIDO

26 La Revista Argentina de Parasitología considera

cuatro tipos principales de manuscritos: artículos originales, artículos de revisión, notas cortas y casos clínicos/reportes de casos. También publica, en la medida de la disponibilidad, otras contribuciones como reseñas de libros y/o eventos científicos, resúmenes de tesis y cartas al editor.

2. ASPECTOS GENERALES

El texto deberá ser escrito en formato Word, en letra Times New Roman, tamaño 12, interlineado doble, hoja A4, márgenes de 2,5 cm, sin justificar, incorporando números de líneas en forma continua y números de página en el margen inferior derecho en forma consecutiva. Los párrafos deben comenzar con tabulaciones de un centímetro.

Los nombres científicos de géneros y especies deben escribirse en cursiva. Las especies se escriben como binomio completo solamente la primera vez que se usan en cada sección, luego se abreviará el nombre genérico. El autor y el año de cada taxón parásito (sólo autor en el caso de los hospedadores) deben ser escritos únicamente la primera vez que se mencionan y se deberán incluir los nombres vulgares de los hospedadores.

En el texto, figuras y tablas se debe utilizar el sistema métrico decimal para la indicación de las medidas y grados Celsius para las temperaturas. Los números entre uno y nueve deben escribirse en letras. El tiempo de reloj se designará en el sistema de 24 horas. Para los puntos cardinales se utilizarán las iniciales N, S, E, O y sus combinaciones. Las coordenadas geográficas se emplearán de acuerdo al sistema sexagesimal.

Las diferentes expresiones latinas, (por ejemplo *et al.*, *sensu*) se escribirán en cursiva.

No se aceptarán notas al pie de página.

3. ESTRUCTURA DE LOS MANUSCRITOS

Primera página

Deberá contener:

Título: se escribirá alineado a la izquierda sin justificar, en minúscula con negrita. Se recomienda incluir entre paréntesis la filiación taxonómica de la o las especies estudiadas.

Título en inglés: se escribirá salteando un renglón alineado a la izquierda sin justificar, en minúscula con negrita.

Título abreviado: se incluirá salteando un renglón con una extensión no mayor de 50 caracteres.

Título abreviado en inglés: se incluirá salteando un renglón.

Autores: dejando un renglón, se escribirán apellido seguido de nombres completos de los autores indicando con superíndice numérico, la filiación y dirección laboral. El nombre del autor para correspondencia deberá estar indicado además con asterisco como superíndice.

Filiación y dirección laboral del autor para correspondencia: se escribirá dejando un renglón y debe incluir la sección o departamento de la institución, nombre completo de la institución, dirección postal, localidad, país y correo electrónico.

Segunda página y siguientes:

-RESUMEN/ABSTRACT

Los manuscritos en español o inglés deben incluir un RESUMEN (en español) y un ABSTRACT (en inglés), seguido cada uno de ellos de Palabras Clave (en español) y Keywords (en inglés).

El resumen/abstract no sobrepasará las 300 palabras. Debe especificar claramente los objetivos, materiales y métodos, los resultados sobresalientes y las principales conclusiones.

Las palabras clave/key words, separadas por comas, no deben ser más de cinco por idioma, y deben ser indicativas del contenido del manuscrito (preferentemente palabras que no estén en el título ni en el resumen).

-Cuerpo del texto

Los artículos originales no deberán superar las 12000 palabras, los artículos de revisión las 15000 palabras, mientras que las notas cortas y casos clínicos/reportes de casos, las 3000 palabras.

Artículos originales

El manuscrito se dividirá en las siguientes secciones: INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS (si corresponde) y LITERATURA CITADA. Estos títulos se escribirán en mayúsculas y en negrita. Pueden emplearse subtítulos en minúscula y negrita, sin punto final y deberá escribirse en el renglón siguiente.

Artículos de revisión

Las revisiones corresponden a actualizaciones o consensos de grupos de trabajo acerca de temas de interés parasitológico en el ámbito regional o internacional. Sus autores deben ser especialistas en la temática y el texto debe incluir una revisión bibliográfica amplia y actualizada. No podrán exceder las 15000 palabras, y podrán incluir hasta 8 tablas o figuras y no más de 100 citas bibliográficas.

Casos clínicos/reportes de casos

Corresponden a resultados diagnosticados en pacientes con enfermedades parasitarias inusuales, con hallazgos patológicos novedosos o con nuevas asociaciones en procesos de una enfermedad, entre otros. El RESUMEN no debe exceder las 250 palabras. Debe incluir una INTRODUCCIÓN, la descripción del CASO y DISCUSIÓN. El cuerpo del texto no podrá exceder las 3000 palabras y no deberá tener más de 15 referencias ni más de dos Tablas y dos Figuras.

Notas cortas

Corresponden a novedades taxonómicas, biogeográficas u hospedatorias. El RESUMEN no debe exceder las 250 palabras. Se conservará el mismo orden que para los artículos sin colocar los subtítulos. El cuerpo del texto no podrá exceder las 3000 palabras y no deberá tener más de 15 referencias ni más de dos Tablas y dos Figuras.

-AGRADECIMIENTOS

No deben figurar abreviaturas/títulos tales como Lic., Dr., Sr., Prof., Srta., etc.

-FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Los autores deberán proporcionar toda la información acerca de las fuentes de financiamiento que cubrieron los costos de la investigación.

-CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores deben declarar si existen o no conflictos de interés.

-LITERATURA CITADA

Todas las referencias deben estar citadas según normas APA (American Psychological Association, 6^o Edición).

-En el texto:

Un autor: (Ostrowski de Nuñez, 1994)

Dos autores: (Price y Gram, 1997)

Tres o más autores: (Costamagna *et al.*, 2012)

Cuando se citen dos o más referencias realizadas por diferentes autores se ordenarán cronológicamente, siempre separadas por punto y coma (García *et al.*, 2010; Pérez y Williams, 2011; Rey, 2015).

Las citas de un mismo año se ordenarán alfabéticamente (Martínez, 1999; Ramírez *et al.*, 1999; Saúl y Arteg, 1999).

En el caso de haber dos o más referencias del mismo autor se separarán las citas por comas en orden cronológico (Gallo-Fernández, 2008, 2009, 2011).

No se deben citar trabajos no publicados tales como trabajos en prensa, resúmenes de congreso o tesis de grado.

-En las referencias bibliográficas:

Las citas bibliográficas deberán llevar sangría francesa, siempre se ordenarán alfabéticamente por el apellido del primer autor, se escribirán los apellidos completos de todos los autores y se colocarán al final del documento:

-Artículos:

Un autor: Stromberg Bert, E. (1997). Environmental factors influencing transmission. *Veterinary Parasitology*, 72, 247-264.

Dos autores: García, J. J. y Camino, N. B. (1987). Estudios preliminares sobre parásitos de anfípodos (Crustacea: Malacostraca) en la República Argentina. *Neotrópica*, 33, 57-64.

Tres autores o más: Messick, G. A., Overstreet, R. M., Nalepa, T. F. y Tyler, S. (2004). Prevalence of parasites in amphipods *Diporeia* spp. from Lakes Michigan and Huron, USA. *Diseases of Aquatic Organisms*, 59, 159-170.

Varias citas del mismo autor, primero se ordenarán en las que aparece como único autor y según el año de publicación. Si hubiere más de un autor se ordenarán alfabéticamente por el segundo autor y, si éste coincide, por el tercero y así sucesivamente. Si coinciden todos los autores, se ordenará por año de publicación en orden creciente.

-Libros:

Atkinson, C. T., Thomas, N. J. y Hunter, D. B. (2008). *Parasitic Diseases of Wild Birds*. New York: Wiley-Blackwell Publishing.

Capítulos de libros:

Cicchino, A. C., Castro, D. C. (1998). Amblycera. En J. J. Morrone, y S. Coscarón (Eds.). *Biodiversidad de artrópodos argentinos. Una perspectiva biotaxonomica* (84-103). La Plata: Ediciones Sur.

-Tesis:

Zonta, M. L. (2010). Crecimiento, estado nutricional y enteroparasitosis en poblaciones aborígenes y cosmopolitas: los Mbyá guaraní en el Valle del arroyo Cuña Pirú y poblaciones aledañas (Misiones) (Tesis Doctoral). Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

-Páginas web:

Kern Jr., W. H. (2003). *Pseudolynchia canariensis* (Macquart) (Insecta: Hippoboscidae). Recuperado de http://creatures.ifas.ufl.edu/livestock/pigeon_fly.htm. Último acceso 15 abril 2012.

-TABLAS Y FIGURAS

Las tablas y las figuras deben indicarse en el texto, entre paréntesis, del siguiente modo (Fig.) o (Figs.) y (Tabla) o (Tablas), respectivamente. Las leyendas deben ser autoexplicativas. Todas deben estar numeradas en formato arábigo de manera consecutiva.

Tanto las leyendas de las figuras como la de las Tablas deben ser incluidas al final del cuerpo principal del manuscrito. Las abreviaturas o símbolos utilizados deben ser explicados en la leyenda correspondiente.

En las tablas no se deben usar líneas verticales, sólo horizontales y no se aceptarán palabras escritas en mayúscula ni en negrita. Los archivos deben enviarse separados en formato Word o Excel.

Las figuras pueden incluir fotos, dibujos, radiografías, gráficos y mapas. Deben ser numeradas en formato arábigo de manera consecutiva, y se sugiere, cuando corresponda, agrupar las figuras en láminas, en este último caso cada figura debe ser indicada con letras minúsculas. Si corresponde, las figuras deben ubicar la barra de la escala en la esquina inferior derecha. En el caso de los mapas deben tener indicados también las Coordenadas y el Norte geográfico. Las figuras deben enviarse en formato JPG o TIFF con una resolución no menor a 400 dpi. El ancho máximo no debe superar los 18 cm y el largo máximo, no debe superar los 24 cm.

4. OTROS CONTENIDOS**Reseñas de libros y/o eventos científicos**

Estas reseñas corresponden a comentarios de libros y eventos científicos en el ámbito de la Parasitología que por su novedad y actualidad sean de interés para los lectores de la RAP. Se publicarán hasta dos reseñas de libros y/o de eventos científicos por número. Las mismas deberán tener entre 400 y 700 palabras debiéndose incluir foto de la tapa del libro o de algún aspecto de la reunión, respectivamente.

Resúmenes de Tesis

Los resúmenes de Tesis (Doctorales, de Especialización y Maestría), en español o en inglés, no deberán exceder las 800 palabras. Se deberá enviar la siguiente información:

Título de la Tesis (en español e inglés), Autor y correo electrónico, Título obtenido, Unidad Académica y Universidad, Fecha de defensa, Director/a/s de Tesis y Miembros del Tribunal Evaluador.

Cartas al Editor

Las cartas al editor estarán referidas preferentemente a comentarios sobre artículos publicados en la revista. No excederán las 800 palabras, hasta 5 referencias y una Tabla o Figura. Los comentarios deberán hacer mención del volumen y el número en que se publicó el artículo comentado, su título completo y el apellido del primer autor/a.

Otros tipos de manuscritos

Sólo serán publicados por invitación del/la Editor/a Responsable de la RAP y del Comité Editorial.

Editoriales

La oportunidad y las características de los Editoriales quedan exclusivamente a criterio del/la Editor/a Responsable de la RAP y del Comité Editorial.

5. EVALUACIÓN Y REVISIÓN

Los manuscritos son sometidos a evaluación de pares, con la modalidad doble ciego y mediante un sistema de Editores Asociados y revisores especialistas, de reconocida trayectoria nacional e internacional en la temática pertinente. El Editor Asociado asignado, enviará el manuscrito a dos revisores para su evaluación. En este marco, los autores deben sugerir por lo menos tres posibles evaluadores, con sus correspondientes correos electrónicos. El Cuerpo Editorial tomará en cuenta estas sugerencias, aunque puede elegir otros especialistas. El Editor Asociado informará a los autores las etapas de evaluación, en el caso de haber disenso en las mismas se enviará a un tercer evaluador.

La Revista se reserva el derecho de introducir, con conocimiento de los autores, cambios gramaticales, lingüísticos y editoriales que mejoren la calidad del manuscrito.

La decisión final sobre la publicación del artículo será tomada por el el/la Editor/a Responsable.

6. ENVÍO Y CONSULTAS SOBRE MANUSCRITOS

El envío y las consultas sobre manuscritos deben realizarse a: revargparasitologia@gmail.com

7. PUBLICACIÓN

La responsabilidad sobre el contenido de los artículos será de los autores, quienes deberán brindar el consentimiento para su publicación mediante nota firmada y dirigida al/la Editor/a Responsable de la Revista. En la misma deberá constar que el manuscrito no ha sido publicado previamente en ningún medio y que no será enviado a otra revista científica o a cualquier otra forma de publicación durante su evaluación, aclarando asimismo, que no existe conflicto de intereses.

Una vez publicado el número de la Revista en la Página WEB, cada autor tiene derecho a realizar un "auto-archivo" de los trabajos de su autoría en sus páginas personales o repositorios institucionales.

8. ASPECTOS ÉTICOS

En aquellas investigaciones que así lo requieran, deberá adjuntarse la aprobación por el Comité de Bioética y/o Comité de Ética de Investigación de la Institución o Dependencia donde fue realizado el estudio, respetando las normas éticas para el trabajo con animales de laboratorio y los Principios de la Declaración de Helsinki, promulgada por la Asociación Médica Mundial (WMA). La documentación, a la

que Argentina ha adherido y ha generado en temas de Bioética, puede obtenerse en LEGISALUD, área dependiente del Ministerio de Salud de la Nación Argentina: www.legisalud.gov.ar

En la presentación de casos clínicos/reportes de casos, los autores deben mencionar sobre el consentimiento informado del/la paciente/s para la publicación de la información, si ésta puede revelar la identidad de la/s persona/s (Ley de *Habeas Data*). Incluye lo relacionado con la historia clínica, las imágenes y cualquier otro tipo de información acerca del/la paciente.

En el caso de corresponder, deben figurar los permisos de captura y/o de manejo de animales, así como de ingreso de material al país. Asimismo, en los casos correspondientes, deben colocarse números de colección y repositorio de referencia, tanto de especímenes de comparación, como de los vouchers resultado del estudio.

- 4** Editorial
- 5** **Diferencias morfológicas en las venas de la bolsa copulatrix como identificación fenotípica en poblaciones de *Haemonchus contortus* (Nematoda: Haemonchidae) resistentes a benzimidazoles**
Morphological differences in veins of the bursa copulatrix as phenotypic identification in populations of *Haemonchus contortus* (Nematoda: Haemonchidae) resistant to benzimidazoles
Giudici Claudio Juan, Illanes Federico Adrián, Niño Uribe Alvaro Iván, Pruzzo César Iván, Romero Jorge Roberto
- 13** **Análisis de estimadores no paramétricos en la diversidad de digeneos larvales en *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)**
Analysis of nonparametric estimators in the diversity of larval digeneans in *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)
Merlo Matías Javier
- 23** **Reseña del 1° Simposio mendocino de leishmaniasis - Criterios de diagnóstico, abordaje clínico, notificación y vigilancia**
Diego Esteban Cargnelutti
- 25** **Resumen de tesis: Parasitofauna de vizcacha (*Lagostomus maximus*) en la Argentina: Taxonomía y evaluación de especies parásitas como biomarcadoras del ambiente y el riesgo sanitario**
Victoria Canova
- 26** Instrucciones para los autores