

# Evaluación de pudues (*Pudu puda*) como hospedadores de *Anaplasma* y *Babesia* en Chiloé, Chile.

**Sofía Robbiano<sup>1</sup>, Adriana Santodomingo<sup>1</sup>, Richard Thomas<sup>1</sup>, Javier Cabello-Stom<sup>2</sup>, Ronnie Ascencio<sup>2</sup>,**

**Darío Moreira-Arce<sup>3</sup>, Ezequiel Hidalgo-Hermoso<sup>4</sup>, Sebastián Muñoz-Leal<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción

<sup>2</sup> Centro de Conservación Chiloé Silvestre, Nal Bajo, Chiloé, Chile

<sup>3</sup>Departamento de Gestión Agraria, Universidad de Santiago de Chile.

<sup>4</sup>Fundación Buin Zoo, Buin, Chile



# Introducción



El pudú (*Pudu puda*) es una de las especies más pequeñas de la familia Cervidae y está presente en Chile y Argentina. En Chile se encuentra distribuido entre las regiones del Maule y Aysen, incluida la isla grande de Chiloé.

En Chile, el pudú es hospedador de dos garrapatas, *Ixodes stilesi* e *Ixodes taglei*, dos de las 16 especies de *Ixodes* que existen en Sudamérica.

En Sudamérica, los microorganismos transmitidos por garrapatas asociadas a animales silvestres han sido menos estudiados en comparación con agentes transmitidos por garrapatas de animales domésticos.

*Anaplasma* y *Babesia* sólo han sido reportados en Chile en animales domésticos, principalmente el perro. Sin embargo, los ciclos enzoóticos de microorganismos de estos géneros son desconocidos en el país.

## Objetivos

- 1) Detectar la presencia de ADN de bacterias del género *Anaplasma* y protozoos del género *Babesia* en sangre de pudú provenientes de Chiloé.
- 2) Evaluar el posicionamiento filogenético de las secuencias generadas para *Anaplasma* y *Babesia* generadas.

# Material y métodos

Se obtuvieron 50 muestras de sangre de pudú (cervatillos, juveniles y adultos) provenientes de Chiloé, colectadas entre los años 2017 y 2020.

- kit DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN)

Extracción de ADN

Para evaluar la cantidad y la calidad de ADN



- PCR convencional dirigida al gen GADPH de la sangre de pudúes (50 muestras)

Control interno

PCR

- *Anaplasma*: Fragmento del gen 16S rRNA.
- *Babesia*: Fragmentos de genes 18S

Electroforesis en gel de agarosa

Purificar y secuenciar

Purificar y secuenciar en ambas direcciones a MACROGEN

Análisis filogenéticos

- Inferencias filogenéticas de inferencia Bayesiana (IB) con selección de modelo bajo el criterio de información bayesiana (BIC), MrBayes 3.2.6

# Resultados

Del total de muestras se seleccionaron los 26 positivos a GADPH para continuar con el estudio con los genes 16S para *Anaplasma*, y 18S de *Babesia*.

## *Anaplasma*

De las 26 muestras analizadas, seis fueron positivas en el PCR para 16S rRNA. Dos de estas muestras fueron secuenciadas (muestra 35 y 45). El análisis filogenético de IB demuestra que el genotipo detectado se relaciona con cepas de *Anaplasma phagocitophilum* y de Asia y norte América (Fig.1)

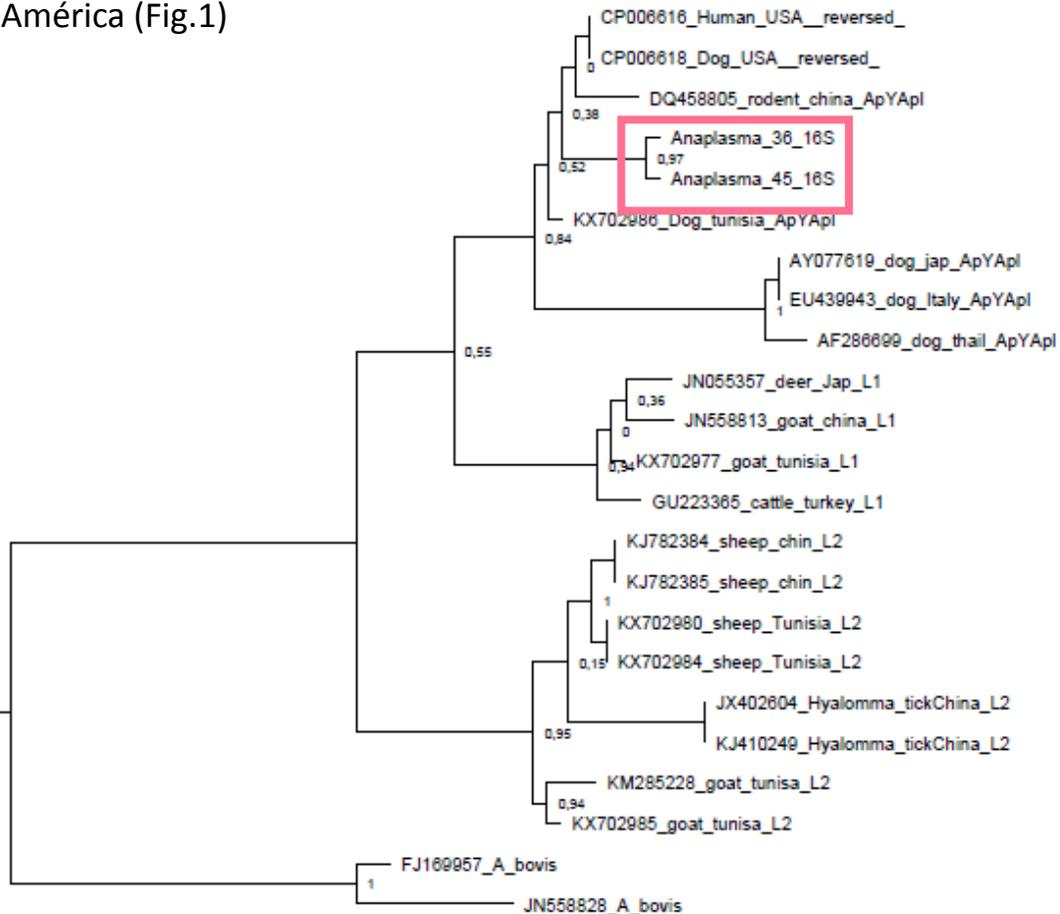


Fig. 1. Árbol filogenético de IB basado en secuencias de 16S de *Anaplasma* spp.

## *Babesia*

Siete muestras fueron positivas en el PCR para 18S de *Babesia*. Dos muestras (28 y 45) fueron secuenciadas. El análisis filogenético de IB (Fig. 2) demuestra que el genotipo de *Babesia* sp. caracterizado se relaciona con *Babesia odocoilei*, una especie que parasita a ciervos en el norte América.

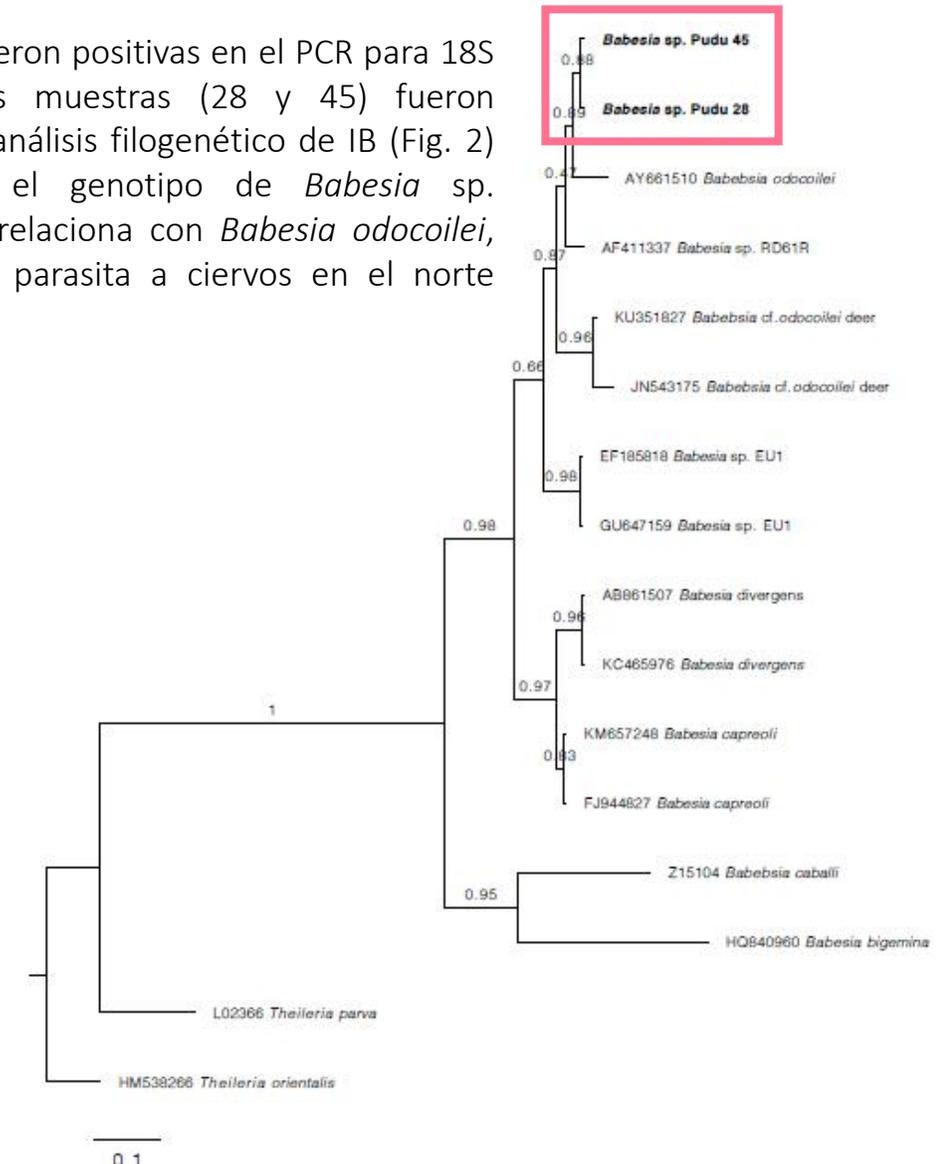


Fig. 2. Árbol filogenético de IB basado en secuencias de 18S de *Babesia* spp.



Fuente imagen: CRFS UdeC

## Conclusiones

- Esta investigación detecta por primera vez *Anaplasma* y *Babesia* en cérvidos de Chile y resalta el papel del Pudú como hospedador de estos agentes.
- Los genotipos de *Babesia* encontrados en las garrapatas están estrechamente relacionados con *Babesia odocoilei* detectada en especies de cérvidos del hemisferio norte. Probablemente, pudús y sus garrapatas (*I. stilesi*) estarían manteniendo ciclos enzoóticos de estos piroplásmidos en la isla de Chiloé. Babesias asociadas a ciervos pueden ser patogénicas para sus hospedadores, por lo que más estudios sobre este nuevo agente protozoario en Chile son necesarios para entender su rol en la dinámica poblacional de los pudús.
- El *Anaplasma* sp. detectado es filogenéticamente próximo a *A. phagocitophilum*, una especie ubicua que posee varios genotipos, algunos de estos zoonóticos o con la capacidad de infectar a rumiantes domésticos. Aún queda una caracterización genética en profundidad para entender si esta nueva bacteria correspondería a una cepa de potencial patogénico o no.

# Referencias bibliográficas

- Milnes Ellie L., Thornton Grace, Léveillé Alexandre N., Delnatte Pauline, Barta John R., Smith Dale A., Nemeth Nicole. *Babesia odocoilei* and zoonotic pathogens identified from *Ixodes scapularis* ticks in southern Ontario, Canada. *Ticks and Tick-borne Diseases* 10:3 (2019) 670-676.
- Hrazdilová Kristýna, Rybářová Markéta, Široký Pavel, Votýpka Jan, Zintl Annetta, Burgess Hilary, Steinbauer Vladimír, Žákovčik Vladimír, Modrý David. Diversity of *Babesia* spp. in cervid ungulates based on the 18S rDNA and cytochrome c oxidase subunit I phylogenies. *Infection, Genetics and Evolution* 77 (2020) 104060.
- Razanske Irma, Rosef Olav, Radzijeuskaja Jana, Bratchikov Maksim, Griciuvienė Loreta, Paulauskas Algimantas. Prevalence and co-infection with tick-borne *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia* spp. in red deer (*Cervus elaphus*) and roe deer (*Capreolus capreolus*) in Southern Norway. *Parasites and Wildlife* 8 (2019) 127–134.
- Nava S, Venzal JM, Gonzalez-Acuña DA, Martins TF, Guglielmone AA. Ticks of the southern cone of America: diagnosis, distribution and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance (2017), Londres: Elsevier. 372 p.