

in Uruguayan wildlife. The ELISA test performance is as expected, being obtained a lower number of seropositive animals for P22, which can be explained by its major specificity. We conclude that more research should be carried out to further investigate the role of wildlife as a reservoir of bovine tuberculosis, to develop future control strategies at the country level.

Keywords: tuberculosis; wild boars; serological diagnosis.

Detección molecular de *Babesia* spp. en *Ixodes fuscipes* (acari: ixodidae) del norte de Uruguay **Molecular detection of *Babesia* spp. in *Ixodes fuscipes* (acari: ixodidae) of northern Uruguay**

Rodrigo Alvez¹, María L. Félix¹, Adriana Santodomingo², Pablo Parodi³, Richard Thomas², Sebastián Muñoz-Leal², Luis Carvalho⁴, José M. Venzal¹ ralvezdecesari@gmail.com ¹Laboratorio de Vectores y Enfermedades Transmitidas, Departamento de Ciencias Biológicas, CENUR Litoral Norte, Universidad de la República. Rivera 1350, 50000 Salto, Uruguay. ²Departamento de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. ³Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Plataforma de Investigación en Salud Animal. Estación Experimental INIA Tacuarembó, Tacuarembó, Uruguay. ⁴AgResearch, Grasslands Research Centre, Palmerston North, New Zealand.

El género de garrapatas *Ixodes* es considerado el más antiguo y diverso, con aproximadamente 279 especies. Dentro de este género, destacan las especies del complejo *Ixodes ricinus* que se han implicado en la transmisión de importantes enfermedades en humanos como la borreliosis de Lyme, anaplasmosis granulocítica humana y babesiosis. La babesiosis es causada por protozoarios del género *Babesia* y se considera una enfermedad zoonótica emergente a nivel mundial. En el Cono Sur de América, se encuentran tres especies del complejo *I. ricinus*: *Ixodes pararicinus*, *Ixodes fuscipes* e *Ixodes chacoensis*. En Uruguay, *I. fuscipes* es la única representante del complejo y aún no se ha asociado a la transmisión de *Babesia*. El objetivo de este estudio fue caracterizar molecularmente las especies de *Babesia* en garrapatas *I. fuscipes* del norte de Uruguay. Para ello, se recolectaron garrapatas de la vegetación en los departamentos de Tacuarembó, Rivera y Artigas. La detección de *Babesia* se realizó mediante una PCR de tamizaje dirigida a un fragmento de 551 pares de bases (pb) del gen 18S ARNr. Posteriormente, las muestras positivas se sometieron a otras PCRs dirigidas a amplificar un fragmento mayor del gen 18S ARNr (1.500 pb) y otro de 1.080 pb del gen citocromo c oxidasa subunidad I (COI). Los amplicones obtenidos fueron purificados y enviados a secuenciar. Las secuencias consenso se compararon con otras disponibles en la base de datos GenBank con la herramienta BLASTn y se emplearon para inferir las relaciones filogenéticas mediante el método de máxima verosimilitud. Se recolectaron 840 garrapatas identificadas taxonómicamente como *I. fuscipes*, las cuales se procesaron en 297 muestras: ninfas y adultos de manera individual, y larvas en pools. Doce muestras (dos pools de larvas y 10 ninfas) procedentes de los tres departamentos resultaron positivas en la PCR de tamizaje para *Babesia*. Se obtuvieron 12 secuencias para el gen 18S ARNr (486-1.477 pb) y cinco para COI (891-1.002 pb). Después de las comparaciones con BLASTn, nueve secuencias mostraron una identidad de entre 99,26-99,64% con *Babesia* sp. puidi y de 98,71-99,58% con *Babesia odocoilei* para el 18S ARNr, mientras que otras tres secuencias fueron 97,14-98,48% idénticas con secuencias del grupo *Babesia microti*. Para el gen COI, la identidad fue de 97,37-97,60% con *B. odocoilei*. La inferencia filogenética del gen 18S ARNr mostró que nuestras secuencias conforman dos clados con alto soporte: uno con secuencias del clado *B. odocoilei*, que

también incluye a *Babesia* sp. *pudui*, que parasitan cérvidos, y otro con secuencias del grupo *B. microti*. El árbol filogenético del gen COI exhibió una topología similar al del 18S ARNr, aunque para este gen solo se obtuvieron secuencias relacionadas al clado *B. odocoilei*. En base a los resultados, se determinó la presencia de dos especies de *Babesia* en garrapatas *I. fuscipes* en el norte uruguayo: una relacionada con el clado *B. odocoilei* y otra perteneciente al grupo *B. microti*, caracterizado por su potencial zoonótico. Estos hallazgos representan el primer reporte del clado *B. odocoilei* y del grupo *B. microti* en Uruguay.

Palabras clave: protozoos transmitidos por garrapatas; Babesiidae; zoonosis.

The genus *Ixodes* is considered the oldest and most diverse, with approximately 279 tick species. Within this genus, notable species of the *Ixodes ricinus* complex have been implicated in the transmission of significant human diseases such as Lyme borreliosis, human granulocytic anaplasmosis and babesiosis. Babesiosis is caused by protozoa of the genus *Babesia* and is considered an emerging zoonotic disease worldwide. In the Southern Cone of America, there are three species of the *I. ricinus* complex: *Ixodes pararicinus*, *Ixodes fuscipes* and, *Ixodes chacoensis*. In Uruguay, *I. fuscipes* is the only representative species of the complex and has not been associated with the transmission of *Babesia*. The aim of this study was to molecularly characterize *Babesia* species present in *I. fuscipes* ticks from northern Uruguay. For this purpose, ticks were collected directly from the vegetation in the departments of Tacuarembó, Rivera and Artigas. *Babesia* detection was performed using a screening PCR targeting a 551-base pair (bp) fragment of the 18S rRNA gene. Subsequently, the positive samples were subjected to additional PCRs aimed at amplifying a larger fragment of the 18S rRNA gene (1,500 bp) and a 1,080-bp fragment of the cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene. The obtained amplicons were purified and sent for sequencing. The consensus sequences were compared with those available in the GenBank database using the BLASTn tool and were used to infer phylogenetic relationships through the maximum likelihood method. Eight hundred forty ticks taxonomically identified as *I. fuscipes* were collected, which were processed into 297 samples: nymphs and adults individually, and larvae in pools. Twelve samples (two pools of larvae and 10 nymphs) from the three departments tested positive in the *Babesia* screening PCR. We obtained 12 sequences for the 18S rRNA gene (486-1,477 bp) and five for the COI gene (891-1,002 bp). Upon BLASTn analysis, nine sequences showed 99.26-99.64% identity with *Babesia* sp. *pudui* and 98.71-99.58% with *Babesia odocoilei* for the 18S rRNA gene, while three other 18S rRNA sequences had 97.14-98.48% identity with *Babesia microti* group. For the COI gene, the identity was 97.37-97.60% with *B. odocoilei*. The phylogenetic inference of the 18S rRNA gene showed that our sequences formed two high-supported clades: one with sequences from the *B. odocoilei* clade, which also includes *Babesia* sp. *pudui* and parasitize cervids, and another with sequences from the *B. microti* group. The phylogenetic tree of the COI gene exhibited a similar topology to that of the 18S rRNA, although for this gene, only sequences related to the *B. odocoilei* clade were obtained. Based on the results, the presence of two *Babesia* species in *I. fuscipes* ticks northern Uruguay was determined: one related to the *B. odocoilei* clade, and another belonging to the *B. microti* group, which is characterized by its zoonotic potential. Our findings represent the first reports of the *B. odocoilei* clade and *B. microti* group in Uruguay.

Keywords: tick-borne protozoa; Babesiidae; zoonoses.