

INFORME TÉCNICO FINAL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

BARRERAS DE CONTROL PERI-URBANAS: EL PAPEL DE LOS MAMÍFEROS SILVESTRES EN LA CIRCULACIÓN DE HEMOPARÁSITOS EN LA RED DE ECOPARQUES DE MANIZALES, CALDAS, código 1374819.

Número del contrato N/A.

Investigador responsable: Fredy Arvey Rivera Páez, Grupo de Investigación GEBIOME, Semillero de Investigación SEGEM.

Juan David Carvajal A

Juan David Carvajal Agudelo
C.C: 1.006.024.871

Ma Paula T.

María Paula Trujillo Betancur
C.C: 1.053.854.629



Ingrith Yulianni Mejía Fontecha
C.C: 1.053.849.410

Lizeth Fernanda Banguero Muelta.

Lizeth Fernanda Banguero
C.C: 1.062.330.424



Rosa Nathalie Grueso
C.C: 1.144.031.678



Cristian Camilo Serna
C.C: 1.060.649.225

William David Tobón E.

William David Tobón Escobar
C.C: 1.053.842.749

Brandon Gallego Londoño

Brandon Gallego Londoño
C.C: 1.193.125.617



Sebastián Reyes
C.C: 1.053.852.835



John Edward Ocampo Grajales
C.C: 1.116.244.011



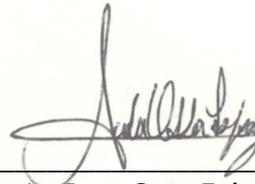
Sebastián Grajales Hahn
C.C: 1.053.854.210



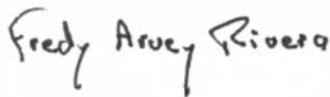
Yuliana Escobar Aguirre
C.C: 1.010.003.511



Dayanni Alexandra Caicedo Guerrero
C.C: 1.053.867.392



Paula Andrea Ossa López
C.C:



Fredy Arvey Rivera Páez
C.C: 93.128.765



Héctor Emilio Ramírez Cháves
C.C:

Tabla de contenido

1. Sinopsis divulgativa
2. Sinopsis técnica
3. Resumen técnico
4. Cuadro de resultados de generación de conocimiento
5. Cuadro de otros resultados
6. Descripción del impacto actual o potencial de los resultados
7. Anexos

1. Sinopsis divulgativa

La pérdida de biodiversidad ha causado un aumento drástico en la aparición de nuevos focos de enfermedades que potencialmente pueden llegar a los seres humanos. Actualmente los entornos urbanos

se caracterizan por estar altamente intervenidos lo que favorece un aumento en la transmisión y aparición de parásitos en vida silvestre. Al tener una mayor cantidad de hospederos en un ecosistema sin intervenciones antrópicas es mucho menos probable que un parásito pueda afectar la salud humana contrario a lo que ocurre en ecosistemas perturbados. Es así como entornos como áreas protegidas y remanentes boscosos ofrecen un medio para amortiguar la transmisión de parásitos patógenos a humanos. Una forma de medir estas influencias es dirigir las investigaciones a los hospederos silvestres como mamíferos. Estos han demostrado que cumplen un papel muy importante en los ciclos de transmisión, mantenimiento y circulación de estos parásitos. El presente estudio buscó establecer la importancia de la diversidad de mamíferos silvestres como hospederos naturales de hemoparásitos y endoparásitos en la red de Ecoparques de Manizales, Caldas a través de la colecta de 41 especímenes de mamíferos. La identificación de hemoparásitos y endoparásitos se realizó por medio de métodos morfológicos y moleculares, provenientes de la toma de muestras sanguíneas y de endoparásitos intestinales.

Los mamíferos estudiados abarcaron roedores, marsupiales y murciélagos. Los endoparásitos registrados fueron cestodos, nematodos y trematodos. Estos deben ser investigados a profundidad para discernir su funcionalidad ecológica y si son transmisibles o no para los humanos, y conocer si reflejan algún riesgo para los habitantes de las zonas urbanas aledañas.

Este estudio contribuye al conocimiento de los hemoparásitos y endoparásitos de mamíferos silvestres en Manizales, Caldas, y al papel que pueden estar jugando los hospederos silvestres en el ciclo de transmisión de algunos parásitos en zonas urbanas y periurbanas

2. Sinopsis técnica

La intervención antrópica constante sobre los ecosistemas naturales tiene el potencial de aumentar el riesgo de la exposición a los humanos a enfermedades infecciosas que provienen de la vida silvestre, debido a que muchas especies están involucradas como vectores y hospederos de diversos parásitos. Se ha demostrado que los mamíferos poseen un papel importante en el mantenimiento de los parásitos en poblaciones silvestres al actuar como reservorios y hospederos.

Este estudio tuvo como objetivo identificar parásitos (hemoparásitos y endoparásitos) asociados a mamíferos terrestres y voladores procedentes de la red de ecoparques de la ciudad de Manizales, a través de herramientas moleculares (PCR clásica) y morfológicas (extendido sanguíneo). Para esto se realizó una fase de campo para la captura de mamíferos en la red de ecoparques de Manizales, principalmente en Los Alcázares, Los Yarumos y el Jardín Botánico de la Universidad de Caldas. Para la captura de los mamíferos se usaron trampas Tomahawk, Sherman y redes de niebla. A todos los mamíferos capturados se les tomó una muestra de sangre mediante una jeringa heparinizada, y además de eso se colectaron y se dispusieron en la colección de mamíferos del Museo de Historia Natural de la Universidad de Caldas, en el cual se analizaron sus compartimientos intestinales en busca de endoparásitos de interés.

Se capturaron un total de 41 individuos entre roedores (tres especies: *Handleyomys alfaroi*, *Melanomys caliginosus* y *Heteromys australis*), marsupiales (dos especies: *Didelphis marsupialis* y *Marmosops cauae*) y murciélagos (ocho especies). No se pudo encontrar ninguna asociación con hemoparásitos de interés como *Rickettsia*, *Trypanosoma*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Plasmodium*. En contraste se encontraron otra clase de hemoparásitos como filarias. La búsqueda de endoparásitos resultó en el reporte de cestodos, nematodos y trematodos. Estos endoparásitos son de gran interés en cuanto a la gran diversidad poco estudiados en mamíferos silvestres, y además sobre su posible transmisión hacia los

humanos. En el caso de las filarias es conocido que estas se transmiten por vectores como dípteros de diferentes especies, y pueden causar enfermedades graves como elefantiasis. Por otro lado, los endoparásitos intestinales han sido reportados en humanos, aunque es poco probable que muchos de estos se transmitan desde la vida silvestre, principalmente por la poca interacción que hay entre murciélagos o roedores silvestres con humanos (debido a que estos parásitos necesitan medios de interacción cercanos, como contaminación por heces o incluso por boca-boca), esto sumado a la estrecha relación que tienen los endoparásitos intestinales con los hospederos, y a los múltiples factores internos y externos que depende su supervivencia, los cuales son muy específicos para propender el paso de los endoparásitos intestinales a otras especies. Sin embargo, estos endoparásitos intestinales, deben ser estudiados más a fondo, principalmente para registrar y reportar la gran cantidad de especies e interacciones que se encuentra aún sin estudiar dentro de los hospederos mamíferos silvestres, y además de estudiar las tantas relaciones ecológicas que poseen parásitos como filarias, cestodos, nematodos y trematodos en vida silvestre y su relación con las zonas periurbanas.

Abstract

The constant anthropic intervention is affecting ecosystem interactions around parasites as changes in biodiversity have the potential to increase the risk of human exposure to infectious diseases that come from wildlife, as many species are involved as vectors and hosts of various parasites. Mammals have been shown to play an important role in the maintenance of parasites in wild populations due to their role as reservoirs and hosts.

This study aimed to identify parasites (Hemoparasites and endoparasites) through molecular (classical PCR) and morphological tools (Blood smear) associated with terrestrial and flying mammals from the network of ecoparks in the city of Manizales. For these, We carried out a broad sampling in the ecoparks of Manizales; Alcázares, Yarumos and the Botanical Garden of the University of Caldas. Tomahawk and Sherman traps were used for terrestrial mammals and fog nets for bats. Blood samples were taken from mammals using a heparinized syringe, and in addition to that, they were collected and placed in the Natural History Museum of the University of Caldas, in which their intestinal compartments were analyzed in search of endoparasites of interest.

A total of 41 individuals sampled among rodents, marsupials and bats were obtained, of which there are rodents such as *Handleyomys alfaroi*, *Melanomys caliginosus*, *Heteromys australis* Thomas, chiropterans, and opossums (*Didelphis marsupiales*). Although no association were found with the parasites of interest such as *Rickettsia*, *Trypanosoma*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* and *Plasmodium*, but another class of haemoparasites such as Filariae were found. Furthermore, the search for endoparasites resulted in the report of endoparasites such as cestodes, nematodes and trematodes. These endoparasites are of great interest in terms of the great diversity little studied in wild mammals, and on their possible transmission to humans. In the case of filariae, it is known that they are transmitted by vectors such as diptera of different species and can cause serious diseases such as elephantiasis. On the other hand, intestinal endoparasites have been reported in humans, although it is unlikely that many of these are transmitted from the wild, mainly due to the little interaction between bats or wild rodents with humans (because these parasites need means of close interaction, such as contamination by feces or even by mouth-mouth), this added to the close relationship that intestinal endoparasites have with the hosts, and to the multiple internal and external factors that depend on their survival, which are very specific to promote the passage of intestinal endoparasites to other species. However, these intestinal endoparasites must be studied more deeply, mainly to record and report the large number of species and interactions that are found to be unstudied within wild mammalian hosts, and to study the many ecological

relationships that parasites have. such as filariae, cestodes, nematodes and trematodes in wildlife and their relationship with peri-urban areas.

3. Resumen técnico

En la región tropical se concentra la biodiversidad más alta del mundo. Sin embargo, la pérdida y disminución de la biodiversidad han resultado en impactos impredecibles que afectan directamente a los humanos y sus comunidades (Keesing et al., 2010). Estos cambios tienen el potencial de afectar el riesgo de la exposición de enfermedades infecciosas que provienen de la vida silvestre, debido a que muchas especies están involucradas como vectores y hospederos de diversos parásitos (Chen et al., 2018). Es así como el mantenimiento de los componentes bióticos puede jugar un rol dual, primero en proveer y mantener la diversidad que puede estar distribuida en términos amplios, como vectores, hospederos y parásitos (muchos de estos patógenos), y segundo, puede reducir la transmisión de estos parásitos, debido a los servicios que provee de limitar, estabilizar y mantenerlos en hospederos silvestres (Keesing et al., 2010).

La aparición y la prevalencia de parásitos causantes de enfermedades también están fuertemente relacionadas con el nivel de biodiversidad, es decir, una alta complejidad de especies e interacciones (Harrus & Bannet, 2005). Estas redes de interacciones pueden amortiguar la circulación y aparición parásitos en los ecosistemas; cuando un hospedero efectivo desaparece probablemente las poblaciones de parásitos aumentaran exponencialmente en el resto de los hospedadores, y como tal el potencial de aumentar el riesgo de la exposición de estas enfermedades desde la vida silvestre a poblaciones humanas (Pereira et al., 2018).

Los roles de los hospederos de parásitos en la vida silvestre suele ser complejos y difíciles de discernir, y las interacciones que confluyen junto con los parásitos dificultan más su estudio (Johnson et al., 2013). Esta relación hospedero-parásito está gobernada desde un equilibrio junto con las interacciones ambientales que se encuentran en los ecosistemas, que pueden afectarse por acciones antrópicas (Yusuf et al., 2001). Las modificaciones más extremas han conllevado al establecimiento de espacios urbanos y sus alrededores, donde solo un número reducido de especies son capaces de sobrevivir (Jiménez-Peñuela et al., 2019). Una forma de reducir estos impactos para las comunidades silvestres en las ciudades ha sido la creación de parques y reservas naturales locales, los cuales tratan de mitigar el efecto de la urbanización. Aunque estos espacios en las ciudades han sido útiles para diversas especies, también se han convertido en ecosistemas de encuentro e interacción de diferentes organismos debido a la distribución y espacio reducido por las ciudades (Bradley & Altizer, 2007). Estas interacciones pueden facilitar el flujo de parásitos entre especies, al aumentar su transmisión y como tal el riesgo de contagios potenciales hacia humanos y otros animales (Alarcón et al., 2019; Jiménez-Peñuela et al., 2019).

Entre los hospederos de parásitos silvestres más importantes dentro de los ecosistemas están los mamíferos, los cuales juegan un papel como hospederos de parásitos cercanos a los humanos, y bioacumuladores de patógenos, lo que facilita el mantenimiento de diversos hemoparásitos relacionados con vectores transmisores de enfermedades (Cleaveland et al., 2001). Entre los hemoparásitos se destacan especies de *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Plasmodium*, *Rickettsia* y *Trypanosoma*, todos causantes de enfermedades en humanos y animales domésticos (Rodrigues et al., 2019). En las zonas templadas de los Andes es común encontrar prevalencias distribuidas de *Anaplasma*, *Ehrlichia* y *Rickettsia*, principalmente en hospederos domésticos como bovinos y perros, debido a la influencia de estos por vectores transmisores, como las garrapatas y pulgas (Ramirez-Hernandez et al., 2013; Miranda & Mattar, 2015; Rivera-Páez et al., 2018). Además, se han encontrado innumerables reportes de endoparásitos relacionados con mamíferos silvestres principalmente con roedores, entre los que se encuentran,

trematodos, cestodos, nematodos y muchos más relacionados (Martínez-Salazar et al., 2016) Estos endoparásitos están fuertemente relacionados con parasitosis que podrían involucrar enfermedades humanas (Otranto & Eberhard., et al 2011). No obstante, no se ha discernido su papel en las infecciones que podrían ocasionar en humanos, debido a que muchas de estas especies poseen relaciones muy específicas con sus hospedadores (Kipper et al., 2011).

Por otro lado, debido al control que se realiza por los humanos, estos animales domésticos y peridomésticos no suelen representar un papel muy arraigado en la manutención de los parásitos; este papel esta mayormente involucrado en hospederos silvestres, de lo cual en la zona y en Colombia, los estudios y la información generan incertidumbre, debido a la basta biodiversidad que no ha sido registrada (Ortiz-Giraldo et al., 2021). A su vez, en cuanto a *Trypanosoma*, no se han realizado estudios concretos en hospederos silvestres de zonas altas, además de la poca información que se conoce sobre la influencia de sus vectores secundarios en ecosistemas tropicales (Falla et al., 2009).

Actualmente hay un vacío de información en cuanto a las prevalencias relacionadas de parásitos (hemoparásitos y endoparásitos) de importancia médica en mamíferos silvestres, y sobre las características que conllevan los espacios intervenidos antropológicamente, para representar los efectos que pueden estar teniendo los animales silvestres, sus papeles dentro de las zonas afectadas y donde confluyen el mayor número de interacciones biológicas en cercanía a las poblaciones humanas. Por ello, este estudio tiene como objetivo contribuir al conocimiento de los hemoparásitos y endoparásitos de mamíferos silvestres en Manizales, Caldas, e indagar sobre el papel que pueden estar jugando los hospederos silvestres en el ciclo de transmisión de algunos parásitos en zonas aledañas a la ciudad de Manizales.

La metodología involucró como sitio de muestreo a Manizales que está ubicada en el centro occidente de Colombia sobre la Cordillera Central de los Andes, a una altura que oscila entre los 800 y 2200 m. Debido a su relieve montañoso, presenta alta diversidad climática como zonas calurosas, templadas y páramo, además de una vasta red de hidrogeográfica, y diversidad de coberturas vegetales. Actualmente Manizales contiene una red de Ecoparques amplia que incluye zonas naturales y lugares periurbanos óptimos para la manutención de mamíferos silvestres. Entre estos lugares están el Jardín Botánico de la Universidad de Caldas, Los Alcázares y los Yarumos. Esta diversidad de reservas naturales sumado a sus características geoclimáticas diversas, hacen a Manizales una ciudad versátil, biodiversa, y comfortable para la investigación de factores ecológicos amplios.

Para la obtención de las muestras de mamíferos se emplearon trampas Sherman, Tomahawk y redes de neblina. Las trampas Sherman y Tomahawk fueron dispuestas en transectos paralelos de longitud variable separados entre sí por una distancia de 20 a 50 metros; el número de transectos se adaptó a la topografía del lugar de muestreo (Arévalo, 2001). Cada trampa fue cebada con una mezcla de banano maduro, granola, esencia de vainilla y sardina para atraer individuos herbívoros, omnívoros y carnívoros. Las trampas fueron activadas durante 15 noches en cada hábitat. Las redes de niebla se separaron 10 metros de distancia entre sí, y se desprendieron alternamente en suelo o sobre la vegetación a una altura promedio de dos metros. Las redes se instalaron aleatoriamente dentro de cada hábitat, y serán operadas entre las 6:00-17:30 h. La identificación de los mamíferos se basó en las claves taxonómicas de Gardner (2008) y Patton et al. (2015). Por último, se colectaron muestras sanguíneas de los mamíferos, mediante venopunción axilar, por medio de capilares heparinizados. Las muestras fueron conservadas en etanol absoluto o cloruro de guanidina para realizar pruebas moleculares, y a su vez se realizaron extendidos de sangre en placas de microscopía para la observación morfológica de los hemoparásitos.

Los extendidos de sangre fueron teñidos con coloración de Giemsa que fueron previamente fijados con metanol; posteriormente se visualizaron mediante microscopia óptico para detectar la presencia de hemoparásitos. Para las muestras conservadas en etanol/cloruro de guanidina, se realizaron extracciones de ADN siguiendo el método de Fenol-cloroformo alcohol Isoamílico, para luego ser sometido a los protocolos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y amplificar fragmentos de ADN específicos que puedan ser usados para la detección e identificación taxonómica de los hemoparásitos, los iniciadores específicos incluirán los géneros de *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Plasmodium*, *Rickettsia* y *Trypanosoma* (Tabla 1). Todos los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis horizontal en geles de agarosa 1% con tampón de corrida TBE 1X pH 8.0 a 110v/50mA. Coloreados con SYBR® Safe, y visualizados en fotodocumentador Gel Doc-It2 310 (UVP). Los productos de la PCR fueron purificados utilizando el kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega), siguiendo las instrucciones del fabricante y enviadas a MacroGen – Korea para la secuenciación de ADN. Se estimó la frecuencia de interacción entre parásito-hospedero mediante incidencias y tablas de frecuencia para cada especie de hemoparásito encontrado y se clasificará por especie de hospedero (Wells *et al.*, 2011).

La información de los sitios de muestreos incluye coordenadas, especie de mamífero, y colecta de información adicional de la especie y de parásitos anexos (Tabla 2). En el ecoparque Los Alcázares se encontró el mayor número de mamíferos con un total de 31 especímenes colectados, pertenecientes a seis familias Didelphidae (n=2), Phyllostomidae, Molossidae, Vespertilionidae, Cricetidae y Heteromyidae. En los Yarumos se capturó 14 especímenes principalmente mamíferos voladores de las familias Phyllostomidae y Vespertilionidae, y por último en el Jardín Botánico de la Universidad de Caldas se capturó 10 especímenes de las familias Phyllostomidae y Vespertilionidae. Las especies encontradas incluyen mamíferos terrestres de los géneros; *Marmosops*, *Melanomys*, *Handleyomys* y *Heteromys*, y voladores de los géneros; *Artibeus*, *Carollia*, *Eptesicus*, *Glossophaga*, *Myotis*, *Platyrrhinus* y *Sturnira*.

La búsqueda de los hemoparásitos *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Plasmodium*, *Rickettsia* y *Trypanosoma* fue negativa en todas las muestras de sangre de los mamíferos silvestres. Este resultado podría explicarse debido a que las influencias de estos hemoparásitos no pertenecen a esta zona geográfica. Por ejemplo, *Rickettsia* se ha reportado en otros animales como roedores o perros en Caldas, ya que sus principales vectores son las garrapatas que los infestan (Ramirez-Hernandez *et al.*, 2013). Por otro lado, *Ehrlichia* y *Anaplasma*, han sido encontrados principalmente en animales domésticos como vacas y perros (Miranda & Mattar, 2015), aunque su papel y origen silvestre aún se requiere más investigación. *Trypanosoma* ha sido relacionado con zonas cálidas y de llano, donde la influencia de su principal vector *Rhodnius prolixus* ha sido encontrado comúnmente (Rueda *et al.*, 2014).

Las filarias fueron el único hemoparásito encontrado en las muestras principalmente en algunas especies de roedores como *Heteromys*, *Melanomys* y *Handleyomys*, en el sitio del Ecoparque los Alcázares. Este hallazgo permitió detectar que la influencia de filarias en este sitio probablemente esté dirigida por vectores dípteros bastante comunes en la zona, los cuales infectan una amplia gama de mamíferos, incluyendo humanos. Es de resaltar que la influencia de estos vectores está muy cercana centros urbanos grandes en la ciudad de Manizales, que incluyen los barrios de La Francia, Alcázares, El Bosque y Arenillo, lo cual podría indicar un riesgo de infección por parte de estos hemoparásitos. Cabe resaltar que las especies exactas y vectores predilectos de estas aún no han sido investigadas, y claramente requieren más atención.

Por otro lado, se encontró una serie de endoparásitos en las especies recolectadas de mamíferos, tanto de terrestres como de voladores. Estos endoparásitos, incluyen cestodos, nematodos y trematodos. Aunque muchos de estos endoparásitos han sido reportados como parásitos de diversos mamíferos, la

investigación de estos se ha dejado de lado, lo cual involucra una gran pérdida de información en biodiversidad relacionada con mamíferos. A su vez, la influencia de estos endoparásitos en humanos no es clara, puesto que se tiene teorizado que estos parásitos son altamente específicos, debido a su relación directa con los hospederos (Ubelaker et al., 1979). Esta relación está dirigida por el mantenimiento intestinal de los hospedadores, lo cual involucra que dependen de una dieta específica, así como de factores externos tanto ambientales, como de factores específicos del hospedero, como temperatura interna, microbioma entre otros (Ubelaker et al., 1979; Newbold et al., 2017).

En conclusión, las áreas naturales alrededor de Manizales parecen no involucrar hemoparásitos patógenos de los géneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Plasmodium*, *Rickettsia* y *Trypanosoma*, relacionados con mamíferos silvestres. En contraste, las filarias, importantes hemoparásitos, podrían representar un riesgo aún desconocido para la salud humana, el cual requiere ser investigado. Así mismo, los endoparásitos encontrados también involucran información viable para la investigación de la biodiversidad y las interacciones parasíticas a su alrededor relacionado con mamíferos silvestres en zonas circundantes a centros urbanos.

4. Cuadro de resultados de generación de conocimiento

OBJETIVOS	RESULTADO ESPERADO	RESULTADO OBTENIDO ¹	INDICADOR VERIFICABLE DEL RESULTADO ²	No. DE ANEXO SOPORTE	OBSERVACIONES
Identificar mediante métodos morfológicos y moleculares las especies de hemoparásitos asociadas a mamíferos silvestres.	Contribuir al conocimiento de los hemoparásitos de mamíferos silvestres en los Ecoparques periurbanos de la ciudad de Manizales.	Aunque no encontramos ninguno de los hemoparásitos esperados en las zonas de los ecoparques, encontramos filarias en la sangre de los mamíferos.	<ul style="list-style-type: none"> • Publicación artículo anexo 4 • Resultados de investigación • Ponencia en evento científico anexo 5 	Tabla 2. Figura 2. Anexo 4 y 5.	
Relacionar las características ecológicas y la diversidad de mamíferos con los hemoparásitos detectados.	Establecer la importancia que poseen las zonas naturales aledañas a las ciudades, en la conservación de la biodiversidad y en la limitación de	Establecimos relaciones ecológicas importantes de acuerdo con los tipos de mamíferos silvestres. Los mamíferos	<ul style="list-style-type: none"> • Publicación artículo anexo • Resultados de investigación • Ponencia en evento científico 	Tabla 2. Figura 1 y 3. Anexo 4 y 5.	

	la transmisión de parásitos.	terrestres están relacionados con una carga parasitaria mayor en términos de filarias, mientras que los murciélagos presentan una diversidad mucho mayor para endoparásitos intestinales.			
--	------------------------------	---	--	--	--

5. Cuadro de otros resultados

OTROS RESULTADOS	COMPROMISO ADQUIRIDO	LOGROS	ANEXO SOPORTE
Publicación <ul style="list-style-type: none"> The chiggerflea <i>Hectopsylla pulex</i> (Siphonaptera: Tungidae): infestation on <i>Molossus molossus</i> (Chiroptera: Molossidae) in the Central Andes of Colombia. <i>Zoologia (Curitiba)</i> 	Publicación artículo científico A o B.	Ramírez-Chaves, H. E., Tamayo-Zuluaga, A. F., Henao-Osorio, J. J., Cardona-Giraldo, A., Ossa-López, P. A., & Rivera-Páez, F. A. 2020. The chiggerflea <i>Hectopsylla pulex</i> (Siphonaptera: Tungidae): infestation on <i>Molossus molossus</i> (Chiroptera: Molossidae) in the Central Andes of Colombia. <i>Zoologia (Curitiba)</i> , 37: e53092. https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e53092	Anexo 4
Charla magistral en el II Segundo Simposio Estudiantil de la Sociedad Colombiana de Mastozoología	Participación evento científico nacional	Ramírez-Chaves. H. E. 2020. Colecciones de Mamíferos en Colombia: herramientas fundamentales para la investigación. 14-16 noviembre de 2020.	Anexo 5

6. Descripción del impacto actual o potencial de los resultados

Esta investigación permitió ampliar los conocimientos sobre reportes de los mamíferos silvestres en la red de ecoparques de Manizales, en términos de reportes específicos en las zonas de muestreo para roedores y murciélagos. La información cobra importancia para el conocimiento de la vida silvestre aledaña de la ciudad de Manizales, la cual es útil para la preservación de los hábitats y la conservación de las especies focales.

El conocimiento de la presencia o ausencia de hemoparásitos transmisibles desde la vida silvestre a los humanos cobra importancia dentro de la salud pública atribuida a los centros urbanos y su población. La información de la ausencia de hemoparásitos en estas áreas, indica que la transmisión de estos hemoparásitos probablemente no está relacionada con las especies de mamíferos silvestres muestreados. Es probable que la frecuencia de estos hemoparásitos sea baja debido a las zonas en factores ambientales que contribuye a la presencia de estos parásitos, como la altura, precipitación entre otros. Esta información es importante debido a que puede dar pie a nuevas investigaciones y al tratar de dar seguimiento hacia estos organismos, su cambio a través del tiempo, cambios climáticos como los referentes al cambio climático global entre otros.

La presencia de Filarias contribuye por primera vez al reporte de este parásito en una zona aledaña urbana en la ciudad de Manizales. Este hemoparásito tiene importancia en la salud pública ya que se han reportado decenas de especies transmisibles a los humanos por partes de vectores dípteros, y unas pocas solo documentadas principalmente en África y Asia causan enfermedades graves como la elefantiasis, u otras enfermedades inflamatorias importantes y de menor gravedad, sin embargo, en las Américas (Brasil, Haití, Guyana y R. Dominicana) se han reportado filariasis linfática endémica. Este riesgo podría decretar nuevas investigaciones que pudieran dar información sobre la transmisión o no de este parásito. Por otro lado, en el caso de los endoparásitos, este proyecto contribuyó al reporte de cestodos, nematodos y trematodos, que no han sido registrados en relación con el área geográfica ni a los hospederos muestreados. Aunque es poco probable que estos parásitos infecten humanos, la información novedosa que se puede obtener al investigar endoparásitos contribuirá al registro de especies, a la biodiversidad colombiana y conocer el estado de conservación en la que se encuentran los recursos en cada uno de los parques.

7. Anexos:

Anexo 1. Bibliografía

- Alarcon, S. D., MacGregor-Fors, I., Falfán, I., Lüdtke, B., Segelbacher, G., Schaefer, H. M., & Renner, S. (2019). Parasites in space and time: a case study of haemosporidian spatiotemporal prevalence in urban birds. *International Journal for Parasitology*, 49(3-4), 235-246.7.
- Arévalo, J. E. (2001). Manual de campo para el monitoreo de mamíferos terrestres en áreas de conservación. *Asociación Conservacionista Monteverde*.
- Bradley, C. A., & Altizer, S. (2007). Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in ecology & evolution*, 22(2), 95-102.
- Chen, L., Huang Z., Zhou S (2018) The Allee effect in hosts can weaken the dilution effect of host diversity on parasitoid infections. *Ecological Modelling* 382, (24): 43-50
- Cleaveland, S., Laurenson, M. K., & Taylor, L. H. (2001). Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristics, host range and the risk of emergence. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 356(1411), 991-999.

- Falla, A., Herrera, C., Fajardo, A., Montilla, M., Vallejo, G. A., & Guhl, F. (2009). Haplotype identification within *Trypanosoma cruzi* I in Colombian isolates from several reservoirs, vectors and humans. *Acta tropica*, 110(1), 15-21.
- Gardner, A. L. (Ed.). (2008). *Mammals of South America, volume 1: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats (Vol. 2)*. University of Chicago Press.
- Guhl, F., Jaramillo, C., Carranza, J. C., & Vallejo, G. A. (2002). Molecular characterization and diagnosis of *Trypanosoma cruzi* and *T. rangeli*. *Archives of Medical Research*, 33(4), 362-370.
- Harrus, S. & Baneth, G. (2005) Drivers for the emergence and re-emergence of vector-borne protozoal and bacterial diseases. *International Journal for Parasitology*. 35: 1309–1318
- Jiménez-Peñuela, J., Ferraguti, M., Martínez-de la Puente, J., Soriguer, R., & Figuerola, J. (2019). Urbanization and blood parasite infections affect the body condition of wild birds. *Science of the Total Environment*, 651, 3015-3022.
- Johnson, P. T., Preston, D. L., Hoverman, J. T., & LaFonte, B. E. (2013). Host and parasite diversity jointly control disease risk in complex communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(42), 16916-16921.
- Kipper, M., Andretta, I., Monteiro, S. G., Lovatto, P. A., & Lehnen, C. R. (2011). Meta-analysis of the effects of endoparasites on pig performance. *Veterinary Parasitology*, 181(2-4), 316-320.
- Keesing, F., Belden, L. K., Daszak, P., Dobson, A., Harvell, C. D., Holt, R. D., Hudson P, Jolles A, Jones KE, Mitchell CE, Myers SS, Bogich T, & Myers, S. S. (2010). Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, 468(7324), 647.
- Miranda, J., & Mattar, S. (2015). Molecular detection of *Anaplasma* sp. and *Ehrlichia* sp. in ticks collected in domestic animals, Colombia. *Trop Biomed*, 32(4), 726-35.
- Martínez-Salazar, E. A., Flores-Rodríguez, V., Rosas-Valdez, R., & Falcón-Ordaz, J. (2016). Helminths parásitos de algunos roedores (Cricetidae, Heteromyidae, and Sciuridae) de Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.
- Newbold, L. K., Burthe, S. J., Oliver, A. E., Gweon, H. S., Barnes, C. J., Daunt, F., & van der Gast, C. J. (2017). Helminth burden and ecological factors associated with alterations in wild host gastrointestinal microbiota. *The ISME journal*, 11(3), 663-675.
- Otranto, D., & Eberhard, M. L. (2011). Zoonotic helminths affecting the human eye. *Parasites & vectors*, 4(1), 41.
- Ortíz-Giraldo, M., Tobón-Escobar, W. D., Velásquez-Guarín, D., Usma-Marín, M. F., Ossa-López, P. A., Ramírez-Chaves, H. E., Juan D. Carvajal-Agudelo & Rivera-Páez, F. A. Ticks (Acari: Ixodoidea) associated with mammals in Colombia: a historical review, molecular species confirmation, and establishment of new relationships. *Parasitology Research*, 1-12.
- Pacheco, M. A., Cepeda, A. S., Bernotienė, R., Lotta, I. A., Matta, N. E., Valkiūnas, G., & Escalante, A. A. (2018). Primers targeting mitochondrial genes of avian haemosporidians: PCR detection and differential DNA amplification of parasites belonging to different genera. *International journal for parasitology*, 48(8), 657-670.
- Patton, J. L., Pardiñas, U. F., & D'Elía, G. (Eds.). (2015). *Mammals of South America, volume 2: rodents*. University of Chicago Press
- Pinyoowong, D., Jittapalapong, S., Suksawat, F., Stich, R. W., & Thamchaipenet, A. (2008). Molecular characterization of Thai *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* strains detected in dogs. *Infection, Genetics and Evolution*, 8(4), 433-438.
- Pereira, A., Parreira, R., Cotão, A., Nunes, M., Vieira, M., Azevedo, F., Campino, L., Maia, C. (2018), Tick-borne bacteria and protozoa detected in ticks collected from domestic animals and wildlife in central and southern Portugal. *Ticks and Tick-borne Diseases* 9(2):225-234

- Ramírez-Hernández, A., Montoya, V., Martínez, A., Pérez, J. E., Mercado, M., De La Ossa, A., ... & Ariza, J. S. (2013). Molecular detection of *Rickettsia felis* in different flea species from Caldas, Colombia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(3), 453-459.
- Rivera-Páez, F. A., Labruna, M. B., Martins, T. F., Perez, J. E., Castaño-Villa, G. J., Ossa-López, P. A., ... & Camargo-Mathias, M. I. (2018). Contributions to the knowledge of hard ticks (Acari: Ixodidae) in Colombia. *Ticks and tick-borne diseases*, 9(1), 57-66.
- Rodrigues, M. S., Lima, L., das Chagas Xavier, S. C., Herrera, H. M., Rocha, F. L., Roque, A. L. R., Geraldes, M., & Jansen, A. M. (2019). Uncovering Trypanosoma spp. diversity of wild mammals by the use of DNA from blood clots. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 8, 171-181.
- Rueda, K., Trujillo, J. E., Carranza, J. C., & Vallejo, G. A. (2014). Transmisión oral de *Trypanosoma cruzi*: una nueva situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en Colombia y otros países suramericanos. *Biomédica*, 34(4), 631-641.
- Ubelaker, J. E., Specian, R. D., & Duszynski, D. W. (1979). Endoparasites. Faculty Publications from the Harold W. Manter Laboratory of Parasitology. University of Nebraska-Lincoln, US.
- Wells, K., Lakim, M. B., & Beaucournu, J. C. (2011). Host specificity and niche partitioning in flea–small mammal networks in Bornean rainforests. *Medical and veterinary entomology*, 25(3), 311-319.
- Yusuf, S., Reddy, S., Ôunpuu, S., & Anand, S. (2001). Global burden of cardiovascular diseases: part I: general considerations, the epidemiologic transition, risk factors, and impact of urbanization. *Circulation*, 104(22), 2746-2753.

Anexo 2. Tablas

Tabla 1. Primers usados en la identificación molecular de hemoparásitos de mamíferos.

Hemoparásitos	Gen	Primer	Sequence 5' - 3'	Referencia
<i>Rickettsia</i>	<i>gltA</i>	CS-78	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT	Labruna <i>et al.</i> , 2004
		CS-323	GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT	
	<i>ompA</i>	Rr.190-70	ATGGCGAATATTTCTCCAAA	
		Rr.190-602	AGTGCAGCATTGCTCCCCCT	
<i>Ehrlichia y Anaplasma</i>	16S <i>rDNA</i>	ATT062F	CCTGGCTCAGAACGAACGCT	Pinyoowong <i>et al.</i> , 2008
		ATT062R	GATCCAGCCGCAGGTTACCC	
<i>Trypanosoma</i>	kDNA	S35	AAATAATGTACGGG(T/G)GAGATGCATGA	Guhl <i>et al.</i> , 2002
		S36	GGGTTCGATTGGGGTTGGTGT	
<i>Plasmodium</i>	<i>COXI</i>	AE971-F	AGTCATGTAATMTCWACTAAYTAYTC	Pacheco <i>et al.</i> , 2018
		AE973-R	AACTACTCCTAYRAARAATAACATTG	

Tabla 2. Especies de mamíferos colectados y depositados en el Museo de Historia Natural (MHN-UCa) y sus parásitos anexos en cada uno de los sitios muestreados: LA: Los Alcázares, LY: Los Yarumos y JB: Jardín Botánico.

Orden	Familia	Especie	Sexo	Localidad	Coordenadas		Número catálogo	Parasitos
Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Didelphis marsupialis</i> (Linnaeus, 1758)	Macho	LA	05°03'50''N	75°31'57''W	No colectado	
			Macho	LA	05°03'55''N	75°36'50''W	No colectado	
Didelphimorphia	Didephidae	<i>Marmosops caucae</i> (Thomas, 1900)	Macho	LA	05°03'51.5" N	75°21'58"W	MHN-UCa 3182	Cestodos
Rodentia	Cricetidae	<i>Handleyomys alfaroi</i> (Allen, 1891)	Macho	LA	05°03'51.5" N	75°31'58"W	MHN-UCa 3198	
			Macho	LA	05°03'46.5" N	75°32'06.24" W	MHN-UCa 3199	
			Macho	LA	05°03'46.6" N	75°32' 00"W	MHN-UCa 3200	
			Macho	LA	05°03'45.7" N	75°31'58.5" W	MHN-UCa 3196	
			Hembra	LA	05°03'51.7" N	75°31'57.5" W	MHN-UCa 3197	
			Hembra	LA	05°03'51.7" N	75°31'57.5" W	MHN-UCa 3201	Filaria

		<i>Melanomys caliginosus</i> (Tomes, 1860)	Macho	LA	05°03'45.14" N	75°31'58.9" W	MHN-UCa 3189	
			Macho	LA	05°03'45.14" N	75°31'58.9" W	MHN-UCa 3190	
			Macho	LA	05°03'45.6" N	75°31'59.9" W	MHN-UCa 3191	
			Macho	LA	05°03'49.84" N	75°31'55.54" W	MHN-UCa 3193	
			Hembra	LA	05°03'53.3" N	75°31'58.9" W	MHN-UCa 3194	Filaria
			Macho	LA	05°03'53.30" N	75°31'58.9" W	MHN-UCa 3195	Filaria, Nematodos, Cestodos
			Macho	LA	05°03'45.6" N	75°31'59.9" W	MHN-UCa 3192	Filaria
	Heteromyidae	<i>Heteromys australis</i> Thomas, 1901	Macho	LA	05°03'45.14" N	75°31'58.9" W	MHN-UCa 3188	Filaria, Nematodos
Chiroptera	Phyllostomidae	<i>Artibeus lituratus</i> (Olfers, 1818)	Macho	LA	05°04'02"N	75°31'46"W	MHN-UCa 3069	
			Macho	JB	05°03'24"N	75°29'42"W	MHN-UCa 3268; MHN-UCa 3269; MHN-	Nematodos

							UCa 3271	
			Hembra	JB	05°03'24"N	75°29'42"W	MHN- UCa 3270; MHN- UCa 3272	
			Macho	LY	05°03'51"N	75°28'56"W	MHN- UCa 3275; MHN- UCa 3277	
			Hembra	LY	05°03'52"N	75°24'54"W	MHN- UCa 3306	
			Hembra	LY	05°03'51"N	75°28'56"W	MHN- UCa 3274; MHN- UCa 3276	
		<i>Carollia brevicauda</i> (Schinz, 1821)	Macho	LA	05°04'02"N	75°31'46"W	MHN- UCa303 7; MHN- UCa 3066	Nematodos
			Hembra	LA	05°03'53"N	75°31'52"W	MHN- UCa 3253	
			Macho	LY	05°03'59"N	75°28'55"W	MHN- UCa 3185;	

							MHN-UCa 3186	
			Macho	LY	05°03'52"N	75°24'54"W	MHN-UCa 3307	
			Macho	LY	05°03'51"N	75°28'56"W	MHN-UCa 3308	
			Hembra	LY	05°03'59"N	75°28'55"W	MHN-UCa 3183; MHN-UCa 3184; MHN-UCa 3187	
		<i>Carollia perspicillata</i> (Linnaeus, 1758)	Hembra	LA	05°04'02"N	75°31'46"W	MHN-UCa 3062; MHN-UCa 3063; MHN-UCa 3064	Nematodos
			Hembra	LA	05°04'03"N	75°31'48"W	MHN-UCa 3065	Nematodos
			Hembra	LA	05°03'53"N	75°31'52"W	MHN-UCa 3254	

			Macho	LA	05°03'51"N	75°31'53"W	MHN-UCa 3255	
		<i>Glossophaga soricina</i> (Pallas, 1766)	Macho	LA	05°03'51"N	75°31'53"W	MHN-UCa 3256	
			Hembra	LA	05°03'51"N	75°31'53"W	MHN-UCa 3257	Nematodos
			Macho	JB	05°02'48"N	75°29'40"W	MHN-UCa 3139	
			Macho	JB	05°03'23"N	75°29'39"W	MHN-UCa 3266	
			Hembra	JB	05°03'23"N	75°29'39"W	MHN-UCa 3265; MHN-UCa 3267	Cestodos
			<i>Platyrrhinus dorsalis</i> (Thomas, 1900)	Macho	LA	05°04'02"N	75°31'46"W	MHN-UCa 3068
		<i>Sturnira parvidens</i> Goldman, 1917	Hembra	LA	05°04'03"N	75°31'48"W	MHN-UCa 3067	
	Vespertilionidae	<i>Eptesicus chiriquinus</i> Thomas, 1920	Macho	LA	05°04'03"N	75°31'48"W	MHN-UCa 3071	Trematodos, Nematodos, Cestodos
		<i>Myotis caucensis</i> Allen (1914)	Hembra	LA	05°04'03"N	75°31'48"W	MHN-UCa 3070	

			Hembra	JB	05°03'24"N	75°29'39"W	MHN- UCa327 3	Nematodos
--	--	--	--------	----	------------	------------	---------------------	-----------

Anexo 3. Figuras

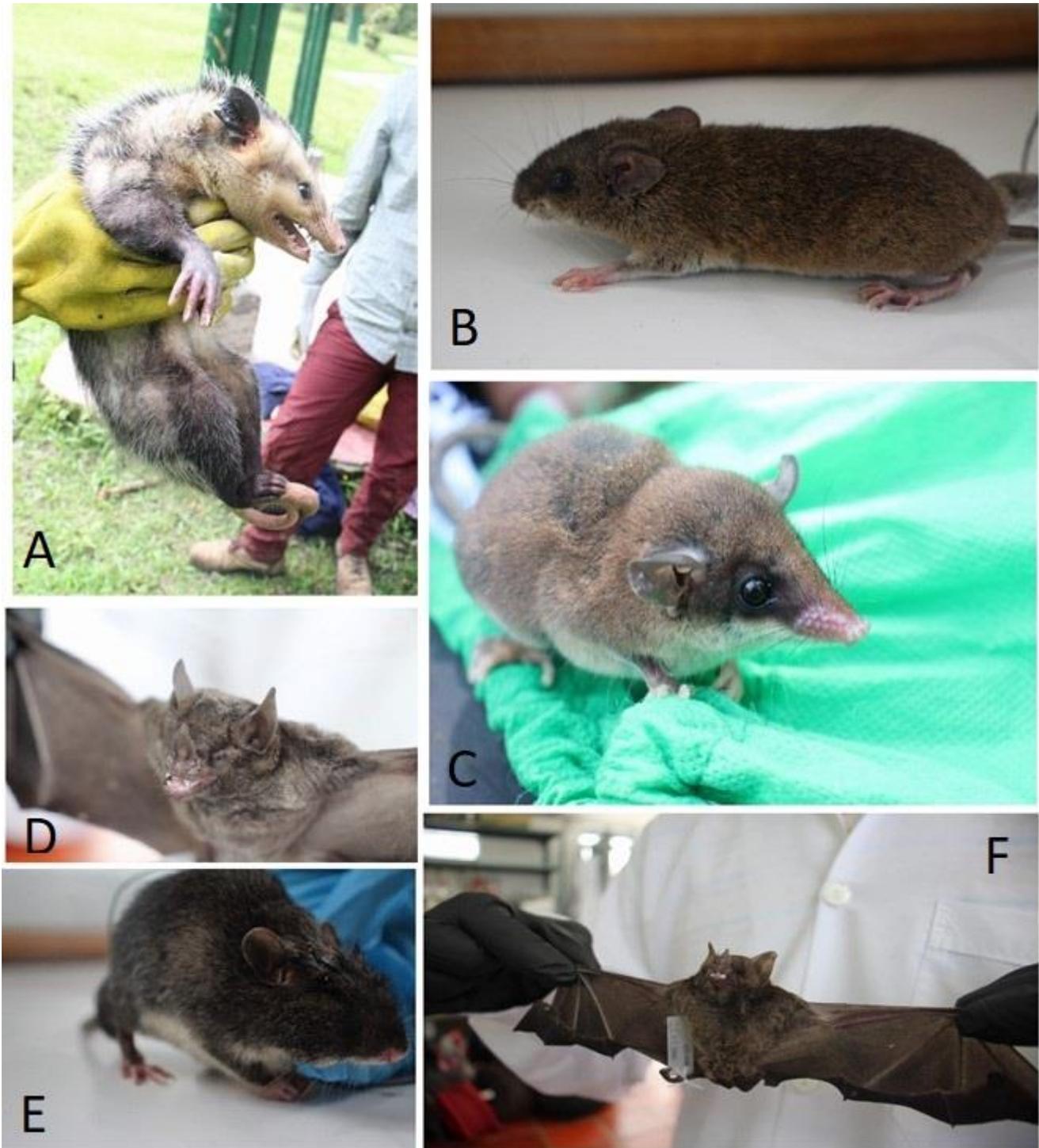


Figura 1. Especímenes representativos de los mamíferos silvestres muestreados en los ecoparques de Manizales. A) *Didelphis marsupialis*, B) *Handleyomys alfaroi*, C) *Marmosops cauae*, D) *Carollia brevicauda*, E) *Heteromys australis*, F) *Carollia prespicillata*

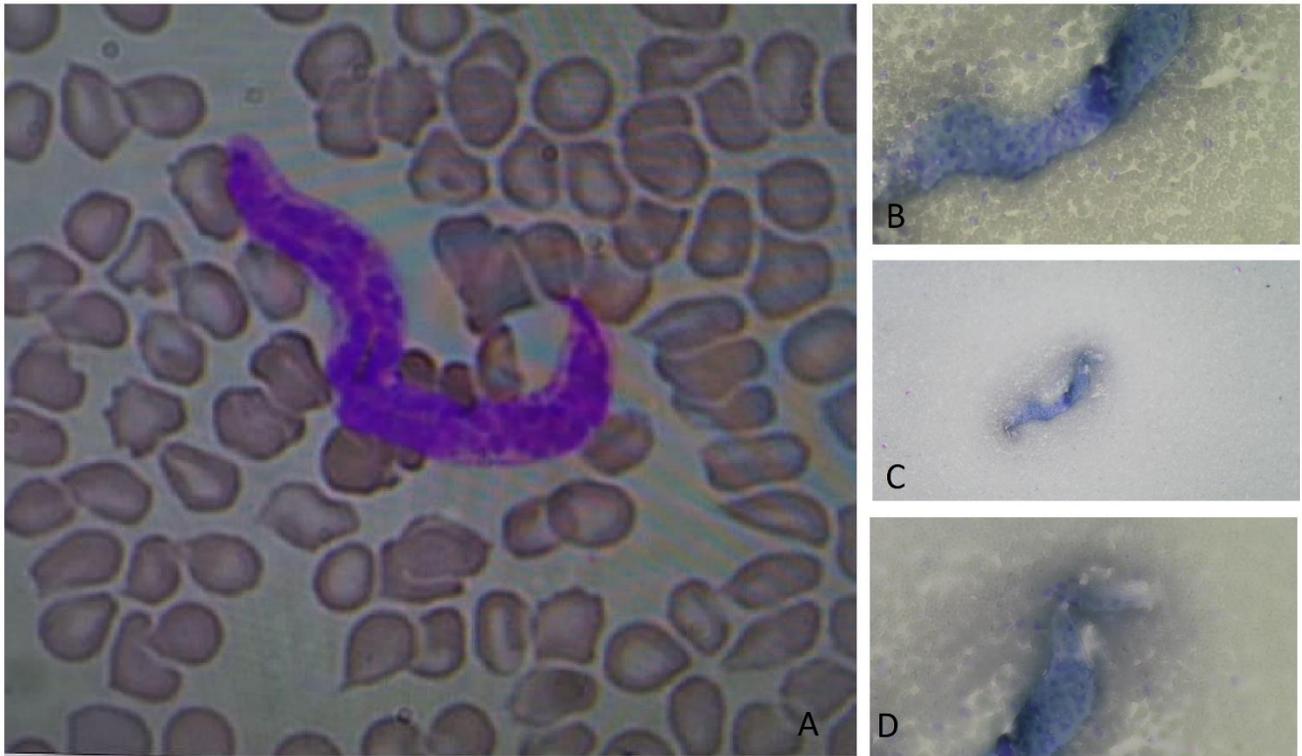


Figura 2. Filarias en sangre (A-D) de mamíferos silvestres encontradas en los mamíferos capturados en Manizales, Caldas.

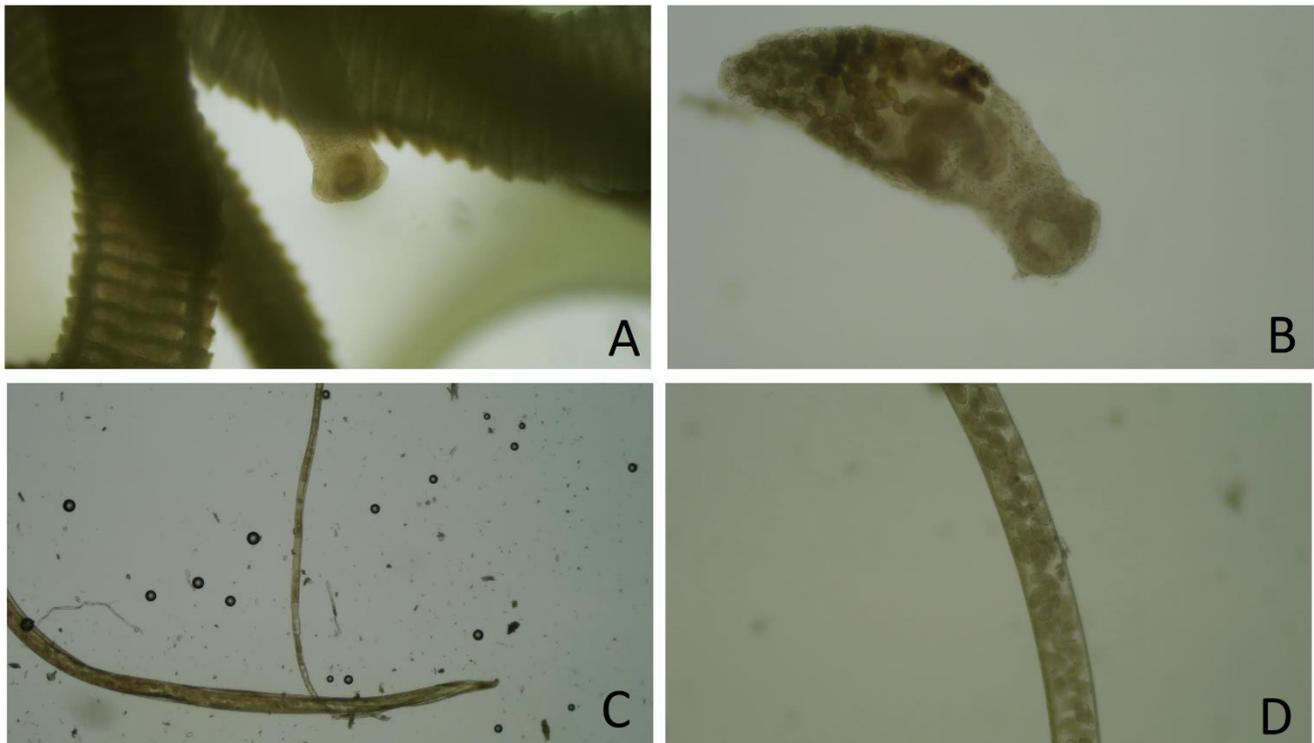


Figura 3. Endoparásitos encontrados en el tracto intestinal de los mamíferos silvestres de Manizales, Caldas. A) Cestodos B) Trematodos C) Nematodos D) Vista interna de un Nematodo, en el cual se pueden observar huevos.

Anexo 4. Publicaciones

Ramírez-Chaves, H. E., Tamayo-Zuluaga, A. F., Henao-Osorio, J. J., Cardona-Giraldo, A., Ossa-López, P. A., & Rivera-Páez, F. A. (2020). The chiggerflea *Hectopsylla pulex* (Siphonaptera: Tungidae): infestation on *Molossus molossus* (Chiroptera: Molossidae) in the Central Andes of Colombia. *Zoologia (Curitiba)*, 37: e53092.

<https://doi.org/10.3897/zoologia.37.e53092>

Abstract

Some species of mastiff bats, *Molossus* Geoffroy, 1805, inhabit human shelters such as houses and barns. Among them, the Pallas's mastiff bat, *Molossus molossus* Pallas, 1766, is the most common species in South America. There are a few studies on this bat in Colombia, mostly on colony size, diet, ectoparasite records, and activity patterns in the Andean and Caribbean regions. Here, we provide information on the prevalence of chiggerfleas, *Hectopsylla pulex* (Haller, 1880), on *M. molossus*, along with molecular data on the flea, and its distribution in Colombia. In addition, we describe the size and sex ratio of the infested bat colony, located in the central Andes of Colombia. The bat colony was represented by ca. 45 individuals, of which 33 were captured. The colony had more females (25 individuals) than males (8 individuals). A total of four Pallas's mastiff bats had chiggerfleas, *H. pulex*, most of which were attached to the bat's faces and ears. The composition of the colony (sex ratio) and the observed activity times match those reported for other colonies of the species in Colombia. The cytochrome oxidase subunit 1, and the 12S rRNA mitochondrial gene obtained from *H. pulex* represent the second and first available sequences for the species, respectively. The level of infestation of individuals in the colony was low, similar to that observed in other South American countries, such as Brazil. Finally, the new locality is the seventh confirmed and the highest elevational record of *H. pulex* in Colombia.

Anexo 5. Certificado de Charla Magistral

II Simposio Estudiantil de la Sociedad Colombiana de Mastozoología. Hector Ramirez-Chaves.