

**DETECCIÓN MOLECULAR DE *Babesia* spp. Y FACTORES ASOCIADOS
EN PERSONAS Y BOVINOS DE LA REGIÓN DEL MAGDALENA MEDIO,
COLOMBIA**

**DANNA YESLIN ESPINOSA MUÑOZ
ESTUDIANTE DE MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA**

**ESCUELA DE MICROBIOLOGÍA
UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA
MEDELLIN, COLOMBIA**

2021

**Detección molecular de *Babesia* spp. y factores asociados en personas y bovinos de la
región del Magdalena Medio, Colombia**

Danna Yeslin Espinosa Muñoz

Estudiante de Maestría en Microbiología

Directora de trabajo de investigación

Lina Andrea Gutiérrez Builes, Bact., PhD

**Docente Investigadora, Grupo Biología de sistemas, Facultad de Medicina,
Universidad Pontificia Bolivariana**

Comité de asesores del trabajo de investigación

Lucelly López López, GESIS, Esp. en Estadística, PhD

Leonardo Ríos, Bact, MSc, PhD

Escuela de Microbiología

Universidad de Antioquia

Medellín, Colombia

2021

Detección molecular de *Babesia* spp. y factores asociados en personas y bovinos de la región del Magdalena Medio, Colombia

Danna Yeslin Espinosa-Muñoz¹

¹Estudiante de maestría en Microbiología y Bioanálisis, Grupo Biología de Sistemas, Escuela de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Universidad Pontificia Bolivariana. Dirección Postal: Calle 78B No. 72A-109, 050034. Medellín, Colombia.

Resumen

Babesia spp. es un protozoo transmitido por garrapatas de la familia Ixodidae e infecta a diversos mamíferos, incluyendo los seres humanos. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de infección por *Babesia* spp. mediante la detección molecular en bovinos y humanos de la región del Magdalena Medio, Colombia. Se realizó una tamización mediante PCR donde se amplificó el gen 18S ARNr a partir de muestras de sangre de bovinos (n=192), personas con exposición ocupacional a la ganadería (n=143) y personas con síndrome febril agudo sin exposición ocupacional a la ganadería (pSFA-SEOG) (n=215). En el grupo de pSFA-SEOG se realizó, además, la detección de anticuerpos IgG anti- *Babesia microti*; y mediante análisis bivariados y multivariados se exploraron los factores asociados. Se obtuvo una frecuencia de detección molecular de *Babesia* spp. en los bovinos de 83.9% (161/192), en ganaderos de 14.8% (21/143) y no hubo detección en las pSFA-SEOG; sin embargo, la prueba serológica arrojó una seropositividad del 10.7% (23/215) en esta población. Mediante el análisis molecular de las secuencias de ADN obtenidas se identificaron las especies *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* en bovinos y *B. bigemina* en ganaderos de la región. No se encontraron variables asociadas con la detección molecular y serológica de *Babesia* spp. en humanos. Sin embargo, en los bovinos las variables asociadas fueron la edad (<9 meses) y el tipo de producción. Estos resultados sugieren la ocurrencia de infección natural por este hemoparásito en bovinos, así como también en los ganaderos, por lo cual será necesario direccionar investigaciones para determinar el papel de este parásito como agente etiológico de enfermedades en la zona, no solo por su importancia veterinaria, sino también por su potencial zoonótico.

Palabras clave: 18S ARNr, babesiosis, enfermedades transmitidas por garrapatas, filogenia, ganado.

Abreviaciones:

18S ARNr, 18S Ácido Ribonucleico ribosomal.; ADN, Ácido Desoxirribonucleico.; BLASTn, del inglés Basic Local Alignment Search Tool for nucleotide sequence.; CDC, Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades.; GAPDH, Gliceraldehído-3-Fosfato Deshidrogenasa.; IC, Intervalo de Confianza.; IgG, Inmunoglobulina G.; IgM, Inmunoglobulina M.; PB, Puerto Berrio.; PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction.; pSFA-SEOG, personas con síndrome febril agudo sin exposición ocupacional a la ganadería.; PN, Puerto Nare.; PT, Puerto Triunfo.; RIQ, Rango Intercuartil.; RP, Razón de Prevalencia.; RPa, Razón de Prevalencia ajustada.

1. Introducción

Las especies del parásito *Babesia* se caracterizan por desarrollar ciclos de vida heteroxenos, que alternan entre un vector artrópodo, en el cual realiza reproducción sexual, y un huésped vertebrado donde ocurren etapas de reproducción asexual, típicamente en el sistema circulatorio y a nivel intraeritrocitario (1). *Babesia* spp. presenta amplia distribución mundial (2) y afecta a una gran variedad de hospederos (3), dentro de los que podemos encontrar al humano, animales domésticos, de vida silvestre y de producción ganadera (4–6). El principal vector involucrado en su transmisión son especies de garrapatas de los géneros *Ixodes* (7), *Rhipicephalus* (8), *Hemaphysalis* (9), *Hyalomma* (10) y *Dermacentor* (11) pertenecientes a la familia Ixodidae; en el caso del género *Amblyomma* su capacidad vectorial aún está en investigación (12). De la familia de garrapatas Argasidae, en *Ornithodoros erraticus* se ha reportado la infección natural por *Babesia meri*, un parásito de las ratas en África (13) (Figura 1).

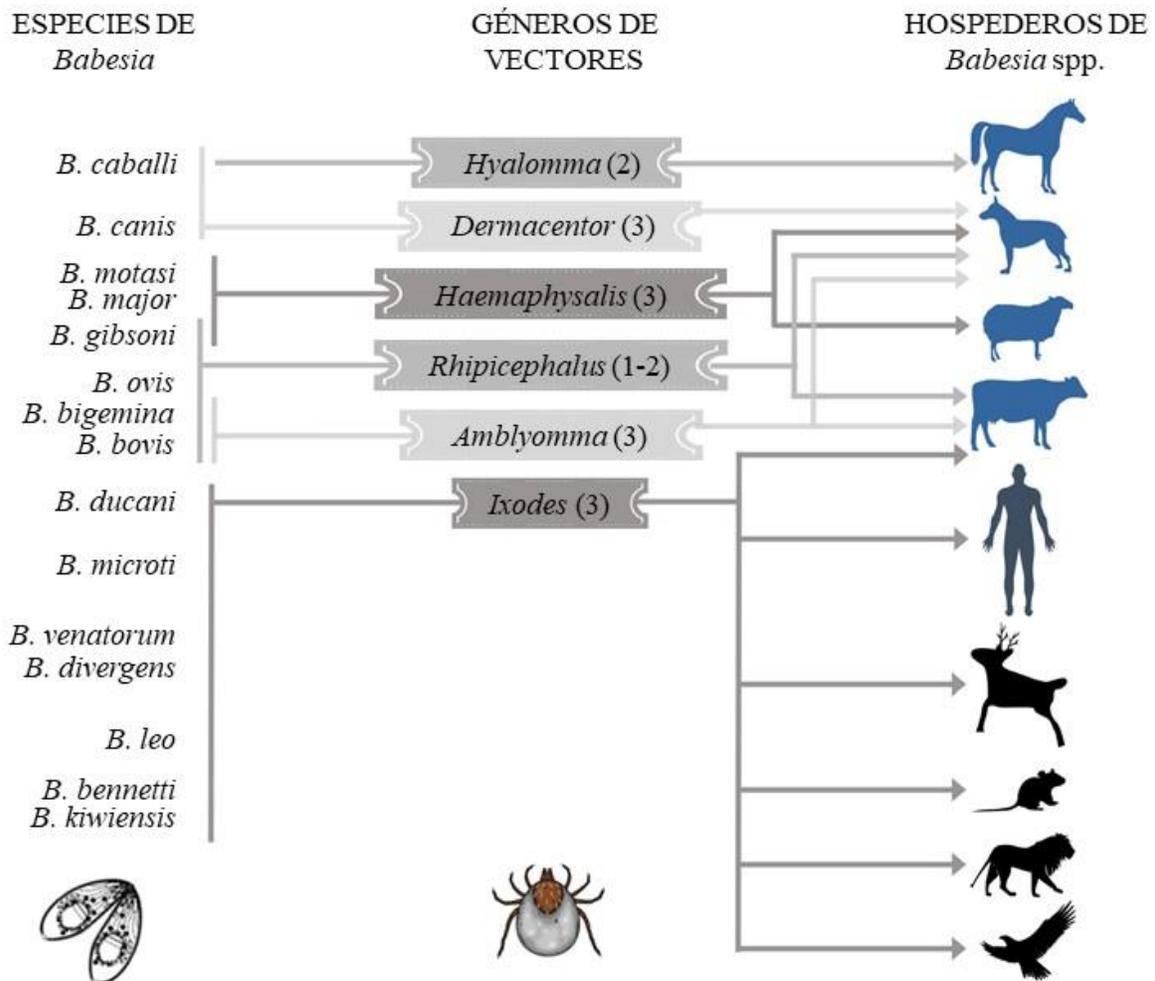


Figura 1. Representación esquemática de la interrelación entre las especies de *Babesia*, sus vectores biológicos y los hospederos implicados en el ciclo de vida de este protozoo. Elaboración propia basada en la literatura y usando el programa © Piktochart 2020. (Powered by Help Scout). En la columna central se indican los géneros de las garrapatas identificados como vectores biológicos transmisores de *Babesia* spp. y entre paréntesis el número de hospederos utilizados como fuente de alimento en su ciclo de vida. En la columna de la derecha se encuentran algunos hospederos de *Babesia* spp. y de las especies

de garrapatas de la columna central. En azul se identifican los animales domésticos y en negro los de vida silvestre.

En la salud pública veterinaria, principalmente en la producción pecuaria, la babesiosis se asocia con pérdidas económicas ocasionadas por mortalidad, disminución en la producción y el uso de tratamientos de manejo clínico (14–16). Esta enfermedad en el ganado cursa con una amplia variedad de signos y síntomas que no son patognomónicos, y que según factores como la edad, el estrés, la raza, el grado de inmunidad transmitido por el calostro desde la madre al ternero y la especie de *Babesia* inoculada, el bovino puede llegar a fallecer o convertirse en un portador crónico de la infección (17–19). En Colombia, las especies identificadas en la ganadería bovina son *Babesia bovis* y *Babesia bigemina* (20–24) y en su transmisión se encuentra incriminada la garrapata *Rhipicephalus microplus* (17,21,25)

En el caso de la babesiosis en humanos, los vectores hasta ahora implicados en la transmisión de *Babesia* sp. han sido *Ixodes scapularis* en Estados Unidos (26) e *Ixodes ricinus* en Europa (27). Los síntomas ocasionados son inespecíficos y pueden coincidir con otras enfermedades infecciosas, que van desde una infección subclínica autolimitada, hasta un cuadro clínico con la presentación de fiebre, fatiga, debilidad, malestar generalizado, mialgia, dolor abdominal, náuseas, vómito, fotofobia, anorexia, artralgia, anemia hemolítica, hemoglobinuria, hematuria e ictericia, que podría tener un desenlace mortal en el caso de los humanos esplenectomizados (28–30). De manera concordante con la evolución clínica en los animales, estos signos y síntomas conducen al personal de la salud a tener una sospecha clínica de otras enfermedades infecciosas (29), incluso en áreas endémicas de babesiosis (31).

Las investigaciones sobre babesiosis en humanos realizadas hasta ahora en Colombia se han orientado a la detección de huella serológica (detección de anticuerpos) y búsqueda microscópica del hemoparásito circulante en sangre periférica en algunas zonas ganaderas del país, donde se ha encontrado exposición a *Babesia microti* en humanos del departamento de Córdoba (Seroreactividad de anticuerpos IgG con una frecuencia de 30.6% (23/80) (32), y a *B. bovis* (Seroreactividad de anticuerpos IgM/IgG con frecuencia de 2.06 % (4/194)) y a *B. bigemina* (Seroreactividad de anticuerpos IgM/IgG con frecuencia de 1.54 % (3/194)) en el municipio de Puerto Berrio del Magdalena Medio antioqueño (33).

Lo que sugiere la exposición a este parásito en estas zonas ganaderas de Colombia y plantea la pertinencia de realizar una caracterización microbiológica más exhaustiva que incluya análisis moleculares, en humanos y animales, para caracterizar la circulación de este microorganismo. El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de detección molecular de *Babesia* spp. y la evaluación de factores asociados en personas con exposición ocupacional a la ganadería, pSFA-SEOG y bovinos de la región del Magdalena Medio, Colombia.

2. Metodología

El desarrollo de la presente investigación contó con el aval del Comité de Ética de Investigación en Salud de la Universidad Pontificia Bolivariana, para procedimientos de muestreo en campo en personas con exposición ocupacional a la ganadería y bovinos (Registro No. 7, 23 de mayo de 2012) (Anexo 1), captación de pacientes con Síndrome Febril Agudo (Registro No. 6, 16 de mayo de 2016) (Anexo 2) y específicamente para el cumplimiento del objetivo del presente estudio (Registro No. 23, 9 de diciembre de 2019) (Anexo 3).

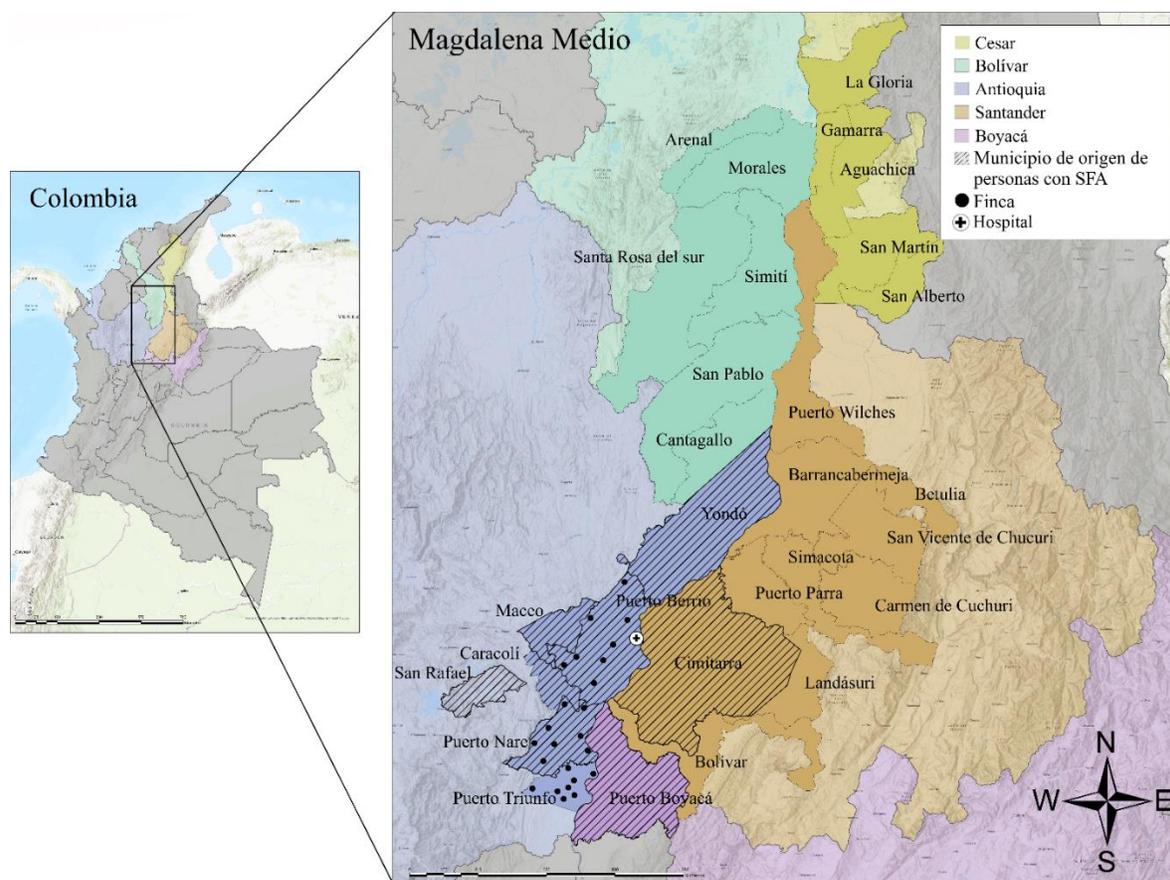
2.1. Diseño del estudio

El presente estudio tuvo un diseño transversal analítico en personas con exposición ocupacional a la ganadería, pSFA-SEOG y bovinos de la región del Magdalena Medio. Para la captación de personas con exposición ocupacional a la ganadería y bovinos; el estudio fue desarrollado entre octubre y noviembre de 2015 en 24 fincas ubicadas en la región del Magdalena Medio, correspondientes a 8 fincas ganaderas por municipio seleccionado, de los municipios de Puerto Berrio, Puerto Nare y Puerto Triunfo. Las fincas debían cumplir con el criterio de poseer un inventario mayor o igual a 176 bovinos para asegurar la disponibilidad de al menos ocho empleados por finca (de ambos sexos y mayores de edad) que estuvieran laborando al momento del muestreo. En cuanto al ganado bovino, de cada finca se tomaron muestras de ocho animales, independientemente de su sexo y edad.

La recolección de las muestras de sangre total (10 ml), tanto de los humanos como de los bovinos, se realizó por sistema de extracción al vacío en tubos BD Vacutainer® estéril con

anticoagulante. Los procedimientos de recolección de las muestras biológicas fueron ejecutados por personal capacitado (Microbiólogo o bacteriólogo y médico veterinario). Las muestras de sangre total obtenidas se transportaron al laboratorio en condiciones de refrigeración para la realización posterior de los procedimientos de extracción de ADN.

La población de pSFA-SEOG fue captada entre noviembre de 2018 y diciembre de 2019 en un hospital de segundo nivel de complejidad ubicado en el municipio de Puerto Berrio,



donde atienden pacientes de varios municipios del Magdalena Medio, como Puerto Triunfo, Puerto Nare, Caracolí, San Roque, Maceo, San José del Nus, entre otros. Se capturaron pacientes mayores de 18 años, quienes aceptaron participar en el estudio, firmaron el consentimiento informado y presentaban fiebre (temperatura oral $\geq 38^{\circ}$ C) de menos de dos semanas y uno o más de los siguientes síntomas: erupción cutánea, hemorragia, infección del tracto respiratorio inferior, ictericia o linfadenopatía (Figura 2).

Figura 2. Ubicación geográfica de las fincas ganaderas del Magdalena Medio, lugar de captación y origen de la población incluida en este estudio. Se recolectaron muestras de sangre de bovinos y ganaderos de las 24 fincas, que se muestran como puntos en la región del Magdalena Medio. También están representados (líneas oblicuas) los municipios de origen de pSFA-SEOG captados en el hospital de Puerto Berrio representados con ⊕. Las coordenadas geográficas se determinaron durante el trabajo de campo utilizando equipo GPS Trimble Juno 3B (Westminster, EE. UU.) El mapa se creó utilizando el software ArcGIS 10.1 (<http://www.esri.com/software/arcgis/index.html>). Los mapas utilizados están a disposición del público y se obtuvieron de Grupo Ingeolan C.A., Esri, Garmin, FAO, NOAA; Esri, AQUÍ, Garmin, FAO, NOAA, USGS y el Departamento Administrativo Nacional de Estadística ((DANE) <https://geoportal.dane.gov.co/servicios/descarga-y-metadatos/descarga-mgn-marco-geoestadístico-nacional/>).

Se excluyó a los pacientes que informaran tener cualquier ocupación relacionada con la ganadería o que indicaran tener contacto cercano con bovinos, si tenían VIH categoría C (cualquier infección oportunista) o $3 (\leq 200 \text{ células CD4})$, más de 72 horas de tratamiento con antibióticos en los últimos ocho días, recibieron tratamiento con esteroides (prednisona $\geq 0.3 \text{ mg / kg / día}$ durante tres semanas o más, o $\geq 1 \text{ mg / kg / día}$ durante \geq siete días) o con citostáticos (excepto metotrexato en dosis bajas: $\leq 15 \text{ mg / semana}$), tenían neoplasias conocidas (excepto carcinoma de células basales, carcinoma de tiroides), granulocitopenia $< 500 \text{ células / mm}^3$, tos o expectoración de más de 15 días, insuficiencia renal o hepática, historia de traumatismo o cirugía previa en los últimos seis meses, fiebre atribuida a antibióticos, diarrea como síntoma inicial y primario, mordedura de serpiente o intoxicación aguda, rinitis, sinusitis, otitis, amigdalitis o sintomatología exclusiva del tracto respiratorio superior (Anexo 4).

Cada participante se contactó para invitarlo a un primer seguimiento entre 2 y 4 semanas después de la captación inicial para tomar una segunda muestra de sangre para la detección serológica pareada de anticuerpos IgG anti *B. microti*.

En el grupo de los individuos expuestos ocupacionalmente a la ganadería se analizaron las características sociodemográficas como, sexo, edad, residencia y municipio de procedencia, presencia de animales domésticos y artrópodos en la residencia, historial ocupacional, tipos

de actividades realizadas en la finca, características higiénicas y sanitarias e historial médico (auto-reporte) (Anexo 5). En los pSFA-SEOG, se analizaron las variables sexo, edad, residencia, presencia de animales y artrópodos en la residencia y/o el trabajo y características clínicas verificadas mediante revisión médica (Anexo 6). Para los bovinos se analizaron variables como edad, sexo, raza, lugar de origen, localización de la finca, tipo de producción y tiempo de permanencia en la finca (Anexo 7). De cada participante se recolectó muestra de sangre en tubo con anticoagulante para la extracción de ADN y en tubo sin anticoagulante para la separación del suero.

2.2 Detección molecular de *Babesia* spp. mediante la amplificación por PCR en muestras de ADN de bovinos, personas con exposición ocupacional a la ganadería y pSFA-SEOG

La extracción del ADN genómico de las muestras de sangre obtenidas de personas con exposición ocupacional a la ganadería y bovinos se realizó con el protocolo de extracción por salting-out para pequeños volúmenes (34) y el ADN genómico de los pSFA-SEOG, se obtuvo con el estuche comercial QIAmp DNAeasy Blood & Tissue (Qiagen, CA, USA). La concentración obtenida de ADN de todas las muestras extraídas, independiente del método, se evaluó en un Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, Massachusetts, USA), y el ADN se almacenó a -20°C hasta su procesamiento.

A todas las muestras de ADN genómico procedentes de los grupos en estudio se les realizó una verificación de su calidad (ausencia de inhibidores de la amplificación) mediante la amplificación por PCR en tiempo real del gen de la enzima GAPDH, tanto para las muestras de bovinos como de humanos usando los primers y condiciones de amplificación descritos previamente (35). Aquellas muestras de ADN que no presentaron amplificación del gen GAPDH fueron excluidas y a partir de nuevas alícuotas de sangre total se realizaron nuevos procesos extracción de ADN y la verificación de inhibidores.

Para la detección de *Babesia* spp. se amplificó un fragmento de 400 pb de la región hipervariable IV del gen 18S ARNr, mediante un protocolo de PCR convencional usando los primers RLB-F (forward) and RLB-R (reverse) (Tabla 1). En el caso de las muestras de bovinos, estas fueron analizadas por triplicado y las muestras de humanos por duplicado. En los procedimientos de amplificación se utilizó agua Milli-Q® Type I (Merck,

Darmstadt, Germany) como control negativo y como controles positivos se usó el ADN de *B. bovis* y *B. bigemina* extraído de sangre infectada, proporcionadas por el Banco de Germoplasma de la Corporación Colombiana de Investigación Agrícola (AGROSAVIA).

Tabla 1. Primers utilizados para la evaluación de inhibición de la amplificación y la detección molecular de *Babesia* spp.

Nombre	Gen diana	Secuencia (5'-3')	Tamaño del amplicon (pb)	Referencia
GAPDH humanF/R	GAPDH	F: GCGATACTCACTCTTCTACCTTCGA R: TCGTACCAGGAAATGAGCTTGAC	1700	(35)
GAPDH BovineF/R	GAPDH	F: TGGGTGTGAACCATGAGAAG R: GCTAAGCAGTTGGTGGTGC	1700	
RLB-F2/R2	Región hipervariable IV del 18S ARNr	F: GACACAGGGAGGTAGTGACAAG R: CTAAGAATTTACCTCTGACAGT	400	(36)

Cada reacción de PCR, tanto para el ADN procedente de las muestras de bovinos como para el de humanos, se realizó en un volumen final de 25µl que contenía la concentración final de 1.25 unidades de polimerasa, 0.25 pmol de cada primer, 3mM de MgCl₂, 0.2mM de dNTPs y aproximadamente 50ng/µL de ADN genómico de cada muestra y se corrió en el equipo T100™ Thermal Cycler (BIO-RAD, Laboratories, Inc, USA). Las condiciones de programación del equipo para las reacciones con ADN de humanos fueron las establecidas previamente (37), al igual que las condiciones de corrida para la detección en el ADN de bovinos (36).

La presencia o ausencia del producto de amplificación se verificó mediante el análisis de 5ul de cada producto de PCR en electroforesis en gel de agarosa al 2%, teñido con EZvision™ Dye (AMRESCO Inc. Cochran Road Solon, EE. UU.) y visualizados en el Fotodocumentador BioSpectrum® Imaging System (UVP, Nuffield Road, Cambridge, UK).

2.3 Detección de anticuerpos IgG anti-*B. microti* en pSFA-SEOG

En la población de pSFA-SEOG se realizó la detección de anticuerpos IgG específicos para *B. microti* con el fin de evaluar la exposición previa a esta especie. A partir de cada muestra de suero se ejecutó un protocolo de inmunofluorescencia indirecta utilizando el estuche comercial BMG-120 y se siguieron las indicaciones del fabricante, tanto para el protocolo de procesamiento de muestras, como para la interpretación de los resultados (muestras positivas con diluciones 1:64) fabricante (FULLER Laboratories, California, USA) (38) (Figura 3).

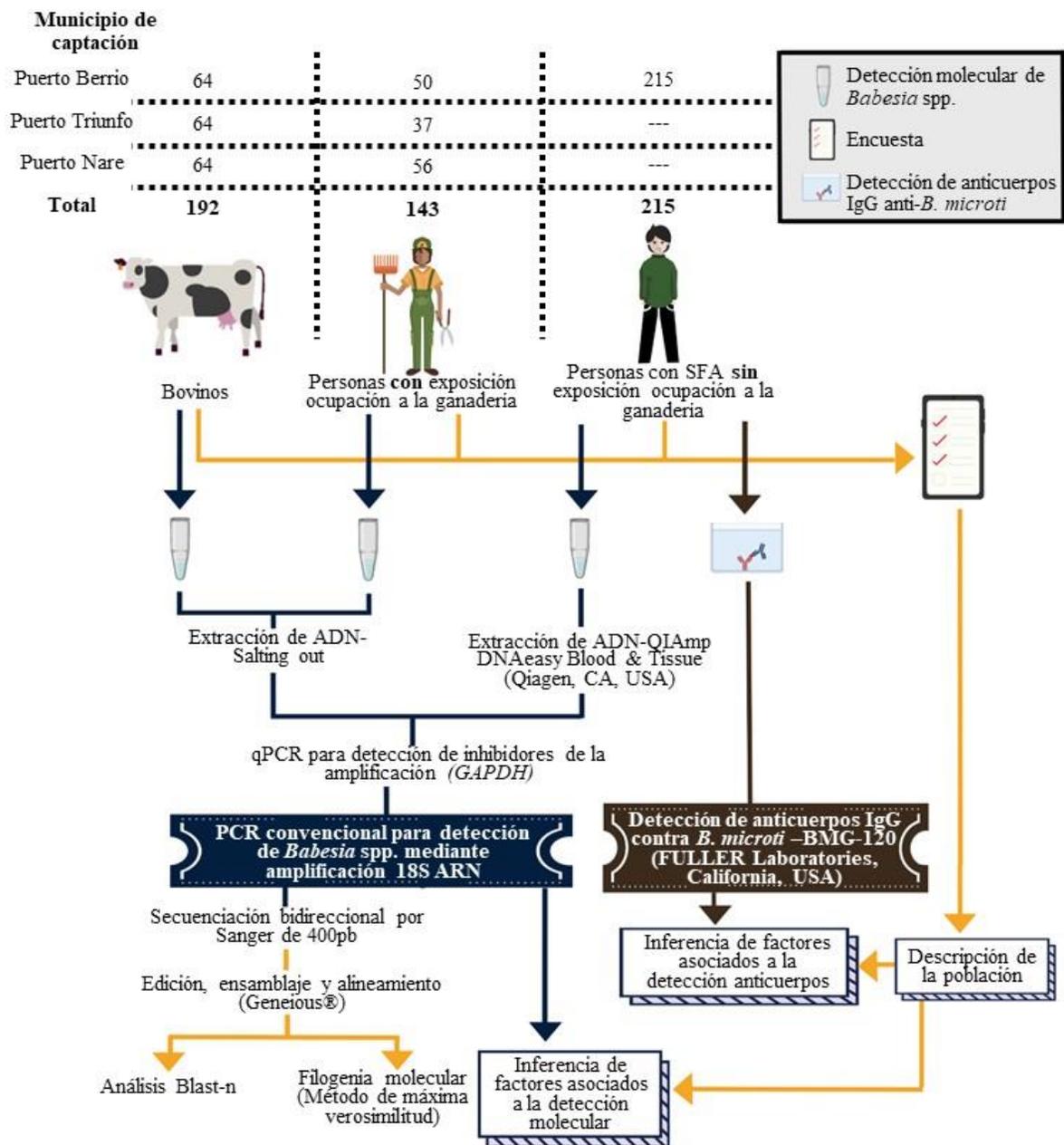


Figura 3. Resumen de la metodología ejecutada. Elaboración propia usando el programa © Piktochart 2020. (Powered by Help Scout). De forma general se representan los aspectos metodológicos de la investigación para permitir una visión global de la misma. Las líneas azules indican los aspectos metodológicos para realizar la detección molecular de *Babesia* spp. mediante la amplificación por PCR en muestras de ADN de la población del estudio. Las líneas cafés indican el flujo del proceso para la determinación de anticuerpos IgG anti-*B. microti* en pSFA-SEOG y las líneas amarillas indican el plan de análisis molecular basado en las secuencias parciales de la región hipervariable IV del gen 18S ARNr y el análisis descriptivo e inferencial de los factores asociados con la detección de *Babesia* spp. mediante análisis serológico y molecular.

2.4 Análisis de datos

2.4.1 Análisis molecular basado en secuencias de ADN

De las muestras positivas se seleccionaron algunas que cumplieran los criterios de concentración y calidad del amplicon para la secuenciación bidireccional del marcador 18S ARNr. Los productos de PCR seleccionados procedentes de bovinos y humanos, fueron purificados y secuenciados (secuenciación bidireccional) por la empresa Psomagen Inc., MD, USA.

Las secuencias parciales de ADN obtenidas para el marcador 18S ARNr fueron editadas y alineadas en el programa Geneious® 9.1.2 (Wellesley St, Auckland, New Zealand); desde el mismo programa se realizó un análisis BLASTn (NCBI, GenBank) de cada secuencia consenso para evaluar su porcentaje de identidad con relación a las secuencias reportadas en el GenBank.

Para lograr mayor soporte del diagnóstico molecular se seleccionaron algunas secuencias de referencia para la familia Babesiidae (Baneth et al., 2020) y se realizó un análisis de filogenia molecular. Para estimar el modelo de sustitución nucleotídica se utilizó la herramienta jModelTest 2.1 (40). Luego se realizó el análisis bajo el método de máxima verosimilitud con un bootstrap de 1000 réplicas, en el programa MEGA X versión 10.2.2 (41). El árbol fue construido en base al modelo TrN+I+G según lo estimado utilizando el criterio de información Bayesiano (BIC). Como grupo externo se incluyó la secuencia

EU052685 perteneciente a la especie *Cardiosporidium cionae* perteneciente, al igual que *Babesia* spp., al orden Aconoidasida.

2.4.2 Análisis estadístico descriptivo e inferencial de factores asociados a la detección molecular de *Babesia* spp.

Para describir la población se usó para las variables cualitativas frecuencias relativas y absolutas, y para las variables cuantitativas medianas con Rango Intercuartil (RIQ), calculadas por medio del programa SPSS[®] software estadístico (SPSS[®] Inc., Chicago, EE.UU.). Para establecer asociación se definió como variable desenlace para toda la población la detección molecular del género *Babesia* y adicionalmente, en el grupo de pSFA-SEOG se analizaron los factores relacionados con la detección de anticuerpos IgG específicos para *B. microti*. En el análisis para establecer asociación de positividad con variables cualitativas se usó Chi cuadrado, test exacto de Fisher o de verosimilitud y en el caso de las variables cuantitativas se usó la prueba de U de Mann Withney.

Mediante regresión de Poisson se estimó la razón de prevalencia cruda (RP) y la razón de prevalencia ajustada (RPa) y su correspondiente intervalo de confianza (IC) al 95% mediante el programa Stata[®] software (Lakeway Drive, Texas, EE. UU.). Además, los errores estándar en el caso de los bovinos y las personas expuestas a la ganadería se ajustaron por clúster para cada municipio, ya que las fincas, los humanos y el ganado presentaban una agrupación natural determinada por la localización de cada finca. En los modelos multivariados se incluyeron aquellas variables que cumplieron con el criterio estadístico de un valor de $p < 0.25$ después de realizar el análisis bivariado (42), por considerarse importantes en la historia natural de la babesiosis o por tratarse de factores de riesgo previamente descritos en humanos (32,43,44) o bovinos (20,45,46).

3. Resultados

3.1. Características sociodemográficas, detección serológica y molecular de *Babesia* spp. en los grupos de estudio

El grupo de personas con exposición ocupacional a la ganadería estuvo conformado por un total de 143 humanos, 37 de Puerto Triunfo (25.9%), 50 de Puerto Berrio (35%) y 56 de Puerto Nare (39.1%). La mayoría eran hombres (82.5%) y presentaron una mediana de edad de 41 años (RIQ: 39-43). Respecto al lugar de residencia, el 83.2% vivían en zonas

rurales y en su gran mayoría tenían animales en la residencia (99.3%), tales como perros (71.3%), bovinos (70.6%), gatos (65.0%) y aves de corral (65.0%), entre otros. La principal ocupación laboral informada fue la de oficios varios (72%), donde se incluyen los trabajos de mantenimiento general de la finca; seguido de ocupaciones administrativas (18.2%), de medicina veterinaria y ocupaciones afines (8.4%). Entre las principales actividades realizadas en la finca se encuentra el ordeño (44.7%) y el encierro del ganado (45.4%).

El 78.3% de las personas con exposición ocupacional a la ganadería expresaron tener contacto directo con los bovinos durante sus labores y el 66.4% se exponen a fluidos biológicos. Además, reportaron la presencia de garrapatas en el trabajo y/o la residencia (88.1%), la presencia de formas inmaduras (larvas y ninfas) de garrapatas (53.2%) y antecedentes de picaduras por garrapatas (62.9%). Las principales características clínicas reportadas (auto-reporte) por las personas de este grupo fueron el padecimiento frecuente de cefalea (38.5%), fiebre (34.3%) y escalofríos (32.9%) (Tabla 2).

Tabla 2. Descripción de las características sociodemográficas, clínicas y sanitarias de las personas con exposición ocupacional a la ganadería y de pSFA-SEOG.

		Personas con exposición ocupacional a la ganadería					
		pSFA-SEOG (n=215)		(n=143)		Total (n=358)	
		#	%	#	%	N	%
CARACTERISTICAS SOCIODEMOGRAFICAS							
Sexo	Femenino	85	39.5	25	17.5	110	30.7
	Masculino	130	60.5	118	82.5	248	69.3
Edad en años (Me (RIQ))		34 (32-36)		41 (39-43)		37 (35-8)	
Residencia	Rural	139	64.6	119	83.2	258	72.1
	Urbana	76	35.3	24	16.8	100	27.9
Municipio del	Puerto Triunfo	0	0	37	25.9	37	10.3
Magdalena Medio	Puerto Berrio	215	100	50	35	265	74
	Puerto Nare	0	0	56	39.2	56	15.7
Lavado de manos después del contacto con animales		16	7.4	131 (138)	91.6	147	41.1
Lavado de manos antes de comer		172	80	134	93.7	306	85.5

FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN POR <i>Babesia</i> spp.							
Animales en vivienda		154	71.6	142	99.3	296	82.6
	Cerdos	6	2.7	47	32.8	53	14.8
	Bovinos	0	0	101	70.6	101	28.2
	Aves de corral ^a	39	18.1	93	65	132	36.86
	Caballos	6	2.7	84	58.7	90	25.1
Animales presentes en la residencia	Ovejas, cabras, chivos	5	2.3	8	5.5	13	3.6
	Perros	101	46.9	102	71.3	203	56.7
	Gatos	105	48.8	93	65	198	55.3
	Aves domésticas ^b	22	10.2	0	0	22	6.1
	Otros animales	5	2.3	18	12.5	23	6.4
	No aplica	61	28.3	1	0.7	62	17.32
Duermen en casa las mascotas (n=313)		76	35.4	18	12.6	96	16.3
Roedores y artrópodos en vivienda	Roedores	138	64.2	106	74.1	243	68.1
	Cucarachas	177	82	120	83.9	297	82.9
	Moscas	173	80.4	115	80.4	288	80.4
	Pulgas	46	21.4	71	49.6	117	32.6
	Ácaros	46	21.4	55	38.4	101	28.2
Ocupación laboral	Veterinario, ganadero u ocupaciones afines	0	0	12	8.4	12	3.4
	Agricultor, minero o trabajador forestal	30	14	3	2.1	33	9.2
	Oficios varios o no especificados	16	7.4	103	72	119	33.2
	Ocupaciones administrativas o comerciante	18	8.4	26	18.2	44	12.3
	Ama de casa	54	25.1	0	0	54	15.1
	Otras ocupaciones ^c	53	24.7	0	0	53	14.8
Animales en el trabajo		34	15.8	143	100	177	49.44
Trabaja con animales		18	8.4	143	100	161	45
Contacto con bovinos en el trabajo		-	-	112	78.3	112	31.3
Contacto con fluidos en el trabajo		13	6.1	95	66.4	108	30.1
Garrapatas en trabajo y/o residencia		95	44.2	126	88.1	221	61.7
Antecedente de picadura por garrapatas		66	30.7	90	62.9	156	43.6
Número de picaduras por garrapatas (Me (RIQ))		4 (2-10) n=66		5 (3-30) n=90		5 (2-10) n=156	
Historia de presencia de formas inmaduras de garrapatas		151	70.2	76	53.2	227	63.4
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS							
Transfusión sanguínea		15	7	12	8.4	27	7.5
Auto-reporte de síntomas	Nauseas	152	70.7	21	14.7	173	48.3
	Fatiga	192	89.3	21	14.7	213	59.6
	Anorexia	181	84.2	12	8.4	193	53.9

Mialgias/artralgias	185	86.1	17	11.9	202	56.4
Cefalea	192	89.3	55	38.5	247	69
Escalofríos	198	92.1	47	32.9	245	68.4
Fiebre	215	100	49	34.3	264	73.7
Vomito	102	47.4	10	7	112	31.3
Conjuntivitis	123	57.2	10	7	133	37.2
Adenopatías	31	14.4	2	1.4	33	9.2
Disnea	35	16.3	5	3.5	40	11.2
Ictericia	11	5.1	2	1.4	13	3.6
Coluria	71	33	8	5.6	79	22.1

^a En esta categoría se agrupan gallos, gallinas y pollos.

^b En esta categoría se agrupan loros, gansos, aves, guacamayas, pericos, patos, palomas y pavos

^c En esta categoría se agrupan personal de la salud, trabajadores de mantenimiento de computadores, docentes, técnico manejo ambiental, conductores de, maquina pesada y camiones, estudiantes, militares,

Mediante el análisis molecular implementado en este estudio se detectó el género *Babesia* en el 14.8% (21/143) de las personas con exposición ocupacional a la ganadería. El 95.2% de los humanos positivos fueron captados en Puerto Nare, el porcentaje restante 4.8% (1/21) procedieron del municipio de Puerto Triunfo y no se detectaron muestras positivas de los humanos captadas en Puerto Berrio.

Un total de 215 pSFA-SEOG fueron evaluados, provenían de diferentes municipios del Magdalena Medio, como Puerto Berrio (86%), Maceo (4.2%), Puerto Nare (2.8%), Caracolí (0.5%), Yondó (0.5%) y San Rafael (0.5%) del Departamento de Antioquia y del municipio de Cimitarra del Departamento de Santander (4.2%) y de Puerto Boyacá del Departamento de Boyacá (0.5%) (Figura 2). La mayoría de ellos eran hombres (60.5%) y presentaron una mediana de edad de 34 años (RIQ: 32-36).

Respecto al lugar de residencia, el 64.6% vivían en zonas rurales y las principales ocupaciones realizadas eran actividades en el hogar (25.1%), agricultura, minería u oficios relacionados (14%) y labores administrativas (8.4%). El 71.6% de los humanos de este grupo de estudio informaron tener animales en residencia, como gatos (48.8%), perros (46.9%) y aves de corral (18.1%), entre otros. Además, el 44.2% reportaron la presencia de garrapatas en el trabajo y/o la residencia, y el 70.2% reportaron la presencia de formas inmaduras de garrapatas. El antecedente de picadura de garrapata fue reportado en el 30.7% de pSFA-SEOG.

En este grupo de estudio no se obtuvo detección molecular de *Babesia* spp. en ninguna de las muestras biológicas analizadas, pero en el análisis serológico para la detección de anticuerpos IgG anti- *B. microti* se obtuvo una frecuencia de positividad del 10.7% (23/215). En el seguimiento, se obtuvo muestra para el análisis serológico pareado solo de 80 de los 215 pacientes captados inicialmente, entre los que se encuentran 4 de los que ya presentaban seropositividad en el análisis de la primera muestra y de estos solo uno continuó seropositivo. En las 76 muestras pareadas restantes, se detectó una seropositividad del 10.5% (8/76) para la detección de anticuerpos IgG anti- *B. microti*.

En el grupo de estudio de bovinos se analizaron 192 animales procedentes de los municipios de Puerto Berrio, Puerto Triunfo y Puerto Nare. El 50% eran machos y tenían una mediana de edad de 20 meses (RIQ: 9-60 meses). Las razas de los bovinos estuvieron distribuidas entre cruces (40.1%), *Bos indicus* (37.5%), *Bos taurus* (18.2%) y criolla colombiana (4.2%). El ganado bovino analizado estaba destinado principalmente a la producción de carne (51%) y leche (30.7%), y la mayoría (77.1%) había nacido en la finca.

Con respecto a la detección molecular de *Babesia* spp. en los 192 bovinos estudiados, se identificó este hemoparásito con una frecuencia de 83.9% (161/192). Mientras que la frecuencia de detección por municipio fue de 92.2% (59/64) para los animales procedentes de Puerto Triunfo, 85.9% (55/64) para los de Puerto Nare y 73.4% (47/64) para los de Puerto Berrio (Tabla 3).

Tabla 3. Descripción de la población bovina estudiada y detección molecular por PCR convencional para *Babesia* spp.

		Municipios (N=192)							
		Puerto Berrio		Puerto Triunfo		Puerto Nare		Total	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Sexo	Hembra	32	50	32	50	32	50	96	50
	Macho	32	50	32	50	32	50	96	50
Edad en meses		18 (12-48)		24 (8-60)		22 (7-72)		20 (9-60)	
Peso en Kg (Mediana (RIQ))		308 (230-398)		300 (120-400)		318 (165-415)		308 (160-400)	
Razas ^a	<i>Bos indicus</i>	29	45.3	15	23.4	28	43.8	72	37.5
	<i>Bos taurus</i>	6	9.4	18	28.1	11	17.2	35	18.2
	Criolla colombiana	3	4.7	4	6.3	1	1.6	8	4.2
	Cruces	26	40.6	27	42.2	24	37.5	77	40.1

Nacimiento	En finca	41	64.1	60	93.8	47	73.4	148	77.1
	Fuera de finca	23	35.9	4	6.3	17	26.6	44	22.9
Tipo de producción	Leche	6	9.4	28	43.8	25	39.1	59	30.7
	Carne	35	54.7	36	56.3	27	42.2	98	51
	Doble propósito	0	0	0	0	12	18.8	12	6.3
	Cría	23	35.9	0	0	0	0	23	12
Tiempo de permanencia en la finca (Mediana (RIQ))		12 (12-30)		24 (8-60)		19 (6-48)		14 (8-48)	
Ganado vacunado contra garrapatas		1	1.6	0	0	0	0	1	0.5
Recuento de garrapatas ((Mediana (RIQ))		12 (4-32)		22 (6-42)		14 (0-24)		16 (4-32)	
PCR para <i>Babesia</i> spp.	Negativo	17	26.6	5	7.8	9	14.1	31	16.1
	Positivo	47	73.4	59	92.2	55	85.9	161	83.9

^a Las razas fueron categorizadas para observar mejor las frecuencias así: *Bos indicus*: bovinos de origen indio, también conocido como ganado cebú, se incluyeron razas como Brahman, Cebú, Gyr y Simbrah; *Bos taurus*: bovinos de origen europeo, dentro de este grupo se incluyeron razas como Holstein, Jersey, Ayrshire, Simmental, Brown Swiss, Normande, Senepol y Swedish Red; Criollos colombianos: BON y Romosinuano.

3.2. Análisis molecular basado en las secuencias parciales de la región hipervariable IV del gen 18S ARNr

Para este análisis se obtuvieron ocho secuencias de la región hipervariable IV del gen 18S ARNr, tres procedentes de muestras de bovinos y cinco de las personas con exposición ocupacional a la ganadería.

En el análisis BLASTn de las secuencias procedentes de las muestras de los bovinos, dos de ellas presentaron porcentajes de identidad del 100% con secuencias de *B. bigemina* y la otra presentó un porcentaje de identidad de 87.7% con secuencias de *B. bovis*. En el caso de las secuencias procedentes de las muestras de las personas con exposición ocupacional a la ganadería se obtuvieron porcentajes de identidad que variaron entre el 99.9 al 100% con secuencias de *B. bigemina* reportadas en el GenBank. Se realizó un alineamiento múltiple para las tres secuencias procedentes de bovinos y otro para las cinco secuencias procedentes de humanos, y al identificarse que las secuencias de humanos eran 100% idénticas entre ellas se eligió una para la realización del análisis de filogenia molecular. En el árbol de filogenia molecular se observa que las secuencias obtenidas de *B. bigemina* tanto de bovinos como de personas con exposición ocupacional a la ganadería se agrupan con otras secuencias de esta misma especie reportadas en otros lugares el mundo,

incluyendo Colombia. Respecto a la secuencia obtenida de *B. bovis*, esta se observa que se agrupa con la secuencia reportada de un bovino en Estados Unidos (Figura 4).

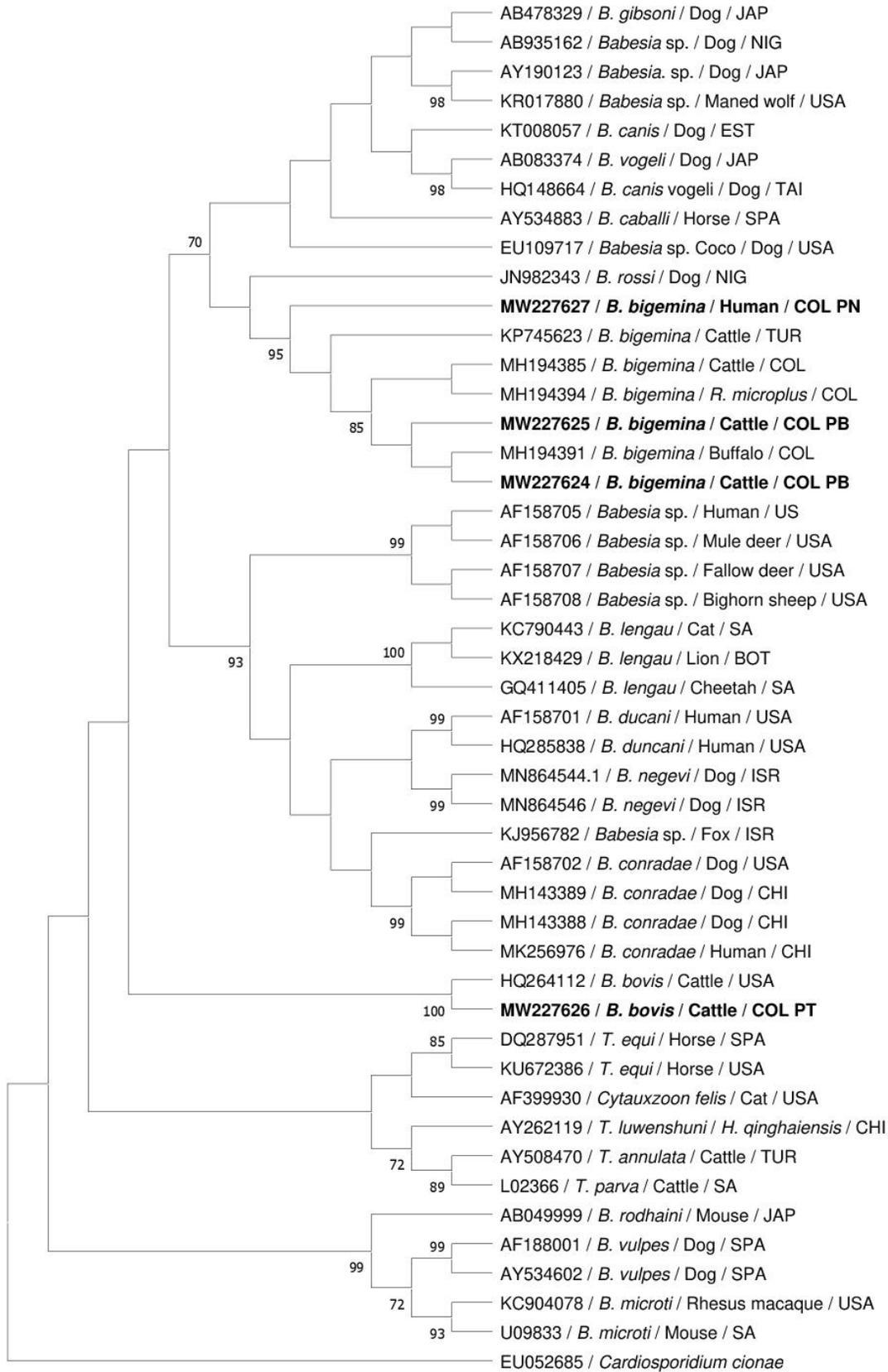


Figura 4. Árbol filogenético obtenido mediante el método de máxima verosimilitud y basado en las secuencias de la región hipervariable IV del gen 18S ARNr para el género *Babesia*. La historia evolutiva se infirió utilizando el método de máxima verosimilitud y el modelo de Tamura-Nei. Se utilizó una distribución gamma discreta para modelar las diferencias de tasa de evolución entre sitios (5 categorías (+ G, parámetro = 0.4772)) y el modelo de variación de tasa ([+ I], 27.92% de sitios) permitió que algunos sitios fueran evolutivamente invariables. Las etiquetas para cada secuencia de referencia incluyen el número de acceso de GenBank y especifican el país de origen. Sus ramas tienen números que indican el soporte de bootstrap (1000 repeticiones), con valores que van del 70% al 100%. Las secuencias obtenidas para este estudio se destacan en negrita. BOT: Botswana, CHI: China, COL: Colombia, EST: Estonia, ISR: Israel, JAP: Japón, NIG: Nigeria, PB: Puerto Berrio, PN: Puerto Nare, PT: Puerto Triunfo, SA: Sur Africa, SPA: España, TAI: Taiwan, TUR: Turquía, USA: Estados Unidos de America.

3.3. Análisis de factores asociados con la detección de *Babesia* spp. mediante análisis serológico y molecular

En el análisis bivariado considerando los resultados de la detección molecular de *Babesia* spp. respecto a las características sociodemográficas, epidemiológicas y los antecedentes ocupacionales de las personas con y sin exposición ocupacional a la ganadería, se observaron variables relacionadas tales como la edad, la exposición ocupacional a la ganadería, la presencia de garrapatas en el trabajo y/o en la residencia, la tenencia de animales y de mascotas que duermen en el interior de la residencia y tener contacto directo con animales en el trabajo. Específicamente en el grupo de personas con exposición ocupacional a la ganadería, el sexo y el antecedente de picaduras por garrapatas, presentó asociación estadísticamente significativa con la detección molecular de *Babesia* spp. (Tabla 4). En el análisis multivariado realizado no se observaron asociaciones de importancia relacionadas con la infección por *Babesia* spp. en la población con exposición ocupacional a la ganadería ni en el grupo de estudio pSFA-SEOG, al igual que no se encontró relación biológicamente plausible entre la detección serológica de anticuerpos IgG anti- *B. microti* y las características analizadas en las pSFA-SEOG (Tabla 5 y 6).

Tabla 4. Análisis bivariado de las características demográficas y epidemiológicas de las personas con exposición ocupacional a la ganadería y las pSFA-SEOG según la positividad molecular por *Babesia* spp.

		Personas con y sin exposición ocupacional a la ganadería		Personas con exposición ocupacional a la ganadería	
		n/N (%)	Valor p	n/N (%)	Valor p
Sexo	Femenino	7/110 (6.4)	0.790	7/25 (28.0)	0.058^a
	Masculino	14/248 (5.6)		14/118 (11.9)	
Edad (Me (RIQ))		Positivo 39 (34-47)	0.109^b	Positivo 39 (34-47)	0.929 ^b
		Negativo 33 (24-47)		Negativo 41.5 (31-49)	
Ubicación de la residencia	Rural	15/258 (5.8)	0.946	15/119 (12.6)	0.124 ^a
	Urbana	6/100 (6.0)		6/24 (25.0)	
Grupo de estudio	Personas con exposición ocupacional a la ganadería	21/143 (14.7)	0.000	NA	NA
	pSFA-SEOG	0/215 (0)		NA	
Presencia de garrapatas en la residencia y/o trabajo	No	2/137 (1.5)	0.005	2/17 (11.8)	1.000 ^a
	Si	19/221 (8.6)		19/126 (15.1)	
Presencia de animales dentro de la residencia	No	0/61 (0.0)	0.032^a	0/1 (0.0)	1.000 ^a
	Si	21/296 (7.1)		21/142 (14.8)	
Historia de presencia de formas inmaduras de garrapatas	No	10/131 (7.6)	0.280	10/67 (14.9)	0.939
	Si	11/227 (4.8)		11/76 (14.5)	
Duermen en casa las mascotas	No	19/249 (7.6)	0.058	19/110 (17.3)	0.736 ^a
	Si	2/94 (2.1)		2/18 (11.1)	
Transfusión sanguínea	No	20/331 (6.0)	1.000 ^a	20/131 (15.3)	1.000 ^a
	Si	1/27 (3.7)		1/12 (8.3)	
Contacto directo con animales en el trabajo	No	0/195 (0.0)	0.000	NA	NA
	Si	21/161 (13.0)		NA	
Antecedente de picadura por garrapatas	No	12/202 (5.9)	1.000 ^a	12/53 (22.6)	0.039
	Si	9/156 (5.8)		9/90 (10.0)	
Número de bovinos positivos a <i>Babesia</i> spp. por finca	Positivo: 6 (6-8)	0.498 ^b	0.498 ^b	11/52 (21.2)	0.498 ^b
	Negativo: 0			8/79 (10.1)	

n: Positivos para la detección de *Babesia* spp.

N: Población total en la variable

NA: No aplica

Valor en negrita: $p < 0.25$

^a Test exacto de Fisher

^b Test de Mann-Whitney

Tabla 5. Análisis multivariado de las variables que cumplieron con el criterio estadístico de valor de $p < 0.25$ en el análisis bivariado de las personas con exposición ocupacional a la ganadería y/o factores de riesgo para la infección con *Babesia* spp. previamente descritos.

N=143			
Variable	RP (IC 95%)	RPa (IC 95%) ^a	$p < 0.05$
Edad (>40 años)	0.82 (0.64-1.05)	0.72 (0.53-0.99)	0.049
Ubicación de residencia (Urbana)	1.98 (1.03-3.79)	2.58 (2.03-3.27)	0.000
Garrapatas en el trabajo y/o residencia	1.28 (0.77-2.11)	1.61 (0.74-3.52)	0.233
Uso de botas	0.82 (0.30-2.20)	0.67 (0.24-1.86)	0.446

^a Ajustada por municipio en clúster

N: Población total

Tabla 6. Análisis descriptivo y bivariado de las características sociodemográficas y clínicas asociados con la detección serológica de anticuerpos IgG a *B. microti* en pSFA-SEOG.

		# (%)	Resultados obtenidos por Serología para <i>B. microti</i>		Análisis bivariado
			Positivos N= 23	Negativos N= 192	
			n (%)	n (%)	Valor p
CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS					
Sexo	Femenino	85 (39.5)	8 (34.8)	77 (40.1)	0.622
	Masculino	130 (60.5)	15 (65.2)	115 (59.9)	
Edad en años (Me (RIQ))		34 (32-36)	29 (20-44)	30 (22-43)	0.566
Ubicación de la residencia	Rural	139 (64.7)	14 (60.9)	125 (65.1)	0.161
	Urbano	76 (35.3)	9 (39.1)	67 (34.9)	
FACTORES DE RIESGO PARA LA INFECCIÓN POR <i>Babesia</i> spp.					
Garrapatas en el trabajo y/o la residencia	No	120 (55.8)	11 (47.8)	109 (56.7)	0.414
	Si	95 (44.2)	12 (52.2)	83 (43.3)	
Animales en la residencia	No	61 (28.4)	8 (34.8)	53 (27.6)	0.446
	Si	154 (71.6)	15 (35.2)	139 (72.4)	
Historia de presencia de formas inmaduras	No	64 (29.8)	5 (21.7)	59 (30.7)	0.373
	Si	151 (70.2)	18 (78.3)	133 (69.3)	
Duermen en la residencia las mascotas	No	139 (64.6)	19 (82.6)	120 (62.5)	0.057
	Si	76 (35.4)	4 (17.4)	72 (37.5)	
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS					
Transfusión sanguínea	No	200 (93)	23 (100)	177 (92.2)	0.379
	Si	15 (7)	0 (0)	15 (7.8)	
Antecedentes clínicos	Diabetes	10 (4.7)	1 (4.3)	9 (4.7)	1.000
	Hipertensión	23 (10.7)	2 (8.7)	21 (10.9)	1.000
	Diagnóstico de malaria	19 (8.8)	4 (17.4)	15 (7.8)	0.129
	Diagnóstico de chikunguña	19 (8.8)	4 (17.4)	15 (7.8)	0.129
	Diagnóstico de dengue	23 (10.7)	5 (21.7)	18 (9.4)	0.080
Auto-reporte de síntomas	Nauseas	152 (70.7)	16 (69.3)	136 (70.8)	0.900 ^a
	Fatiga	192 (89.3)	22 (95.7)	170 (88.5)	0.480
	Anorexia	181 (84.2)	20 (87.0)	161 (83.9)	1.000
	Mialgias/artralgias	185 (86.1)	20 (87.0)	165 (85.9)	1.000
	Cefalea	192 (89.3)	20 (87.0)	172 (89.6)	0.720
	Escalofríos	198 (92.1)	20 (87.0)	178 (92.7)	0.403
	Fiebre	215 (100)	23 (100)	192 (100)	NA
	Vomito	102 (47.4)	12 (52.2)	90 (46.9)	0.631 ^a
	Conjuntivitis	123 (57.2)	10 (43.5)	113 (58.9)	0.159 ^a
	Adenopatías	31 (14.4)	2 (8.7)	29 (15.1)	0.542
	Disnea	35 (16.3)	2 (8.7)	33 (17.2)	0.384
	Ictericia	11 (5.1)	2 (8.7)	9 (4.7)	0.333

	Coluria	71 (33)	7 (30.4)	64 (33.3)	0.780 ^a
Duración de la fiebre (días) (Me (RIQ))	<2 días	23 (10.7)	2 (8.7)	21 (10.9)	0.657
	2- 3 días	77 (35.8)	6 (26.1)	71 (37.0)	
	4-6 días	71 (33)	10 (43.5)	61 (31.8)	
	>7 días	44 (20.5)	5 (21.7)	39 (20.3)	

EXAMEN FÍSICO

Frecuencia cardiaca (latidos por minuto) (Me (RIQ))		95 (80-111)			0.362
Baja		3 (1.4)	1 (4.3)	2 (1.0)	
Normal		136 (63.3)	15 (65.2)	121 (63.0)	
Alta		76 (35.3)	7 (30.4)	69 (35.9)	
Frecuencia respiratoria (Me (RIQ))		20 (18-20)			0.504
Normal		87 (42.9)	8 (34.8)	79 (43.9)	
Alta		116 (57.1)	15 (65.2)	101 (56.1)	
Presión arterial	Normal	155 (72.1)	16 (69.6)	139 (72.4)	0.333
	Elevada	17 (7.9)	1 (4.3)	16 (8.3)	
	Hipertensión nivel 1	23 (10.7)	5 (21.7)	18 (9.4)	
	Hipertensión nivel 2	20 (9.3)	1 (4.3)	19 (9.9)	
Peso (Kg) (Me (RIQ))		65 (60-75)			
Talla (Kg) (Me (RIQ))		167 (160-172)			
Índice de masa corporal (Me (RIQ))		24.00 (21.87-26.56)			0.400
Bajo peso		23 (10.7)	2 (8.7)	21 (10.9)	
Normal		114 (53.0)	15 (65.2)	99 (51.6)	
Sobrepeso		58 (27)	6 (26.1)	52 (27.1)	
Obesidad		20 (9.3)	0 (0)	20 (10.4)	
Esplenomegalia	No	211 (98.1)	23 (100)	188 (97.9)	1.000
	Si	4 (1.9)	0 (0)	4 (2.1)	
Ictericia	No	211 (98.1)	22 (95.7)	189 (98.4)	0.366
	Si	4 (1.9)	1 (4.3)	3 (1.6)	
Coluria	No	189 (87.9)	20 (87.0)	166 (86.5)	1.000
	Si	26 (12.1)	3 (13.0)	26 (13.5)	

^a Análisis bivariado realizado por Prueba Chi cuadrado de Pearson

N: Población total

n: Población según resultado de serología

NA: No aplica

Con respecto a la población bovina se encontró que existe una relación entre la detección molecular de *Babesia* spp. y el municipio de captación, la raza del bovino, el lugar de origen del bovino, el tipo de producción ganadera (leche, carne, doble propósito o cría) y el recuento de garrapatas por bovino (Tabla 7). En el análisis multivariado, se observó que la frecuencia de positividad obtenida mediante PCR convencional para *Babesia* spp. fue mayor en los bovinos dedicados a la producción de leche y en aquellos con una edad menor de 9 meses. (Tabla 8).

Tabla 7. Análisis bivariado de las características, factores demográficos y epidemiológicos asociados a la presencia de *Babesia* spp. en bovinos.

Variable		n/N (%)	Valor p
Sexo	Hembra	79/96 (82.3)	0.556
	Macho	82/96 (85.4)	
Edad (meses)	<9	45/51 (88.2)	0.484
	10-19	34/43 (79.1)	
	>20	82/98 (83.7)	
Municipio	Puerto Berrio	47/64 (73.4)	0.013
	Puerto Nare	59/64 (92.2)	
	Puerto Triunfo	55/64 (85.9)	
Raza	<i>Bos indicus</i>	63/72 (87.5)	0.192
	<i>Bos taurus</i> y raza criolla Colombiana	38/43 (88.4)	
	Cruces de razas	60/77 (77.9)	
Peso (Kg) (Me (RIQ))		Positivo 300 (150-420) Negative 310 (180-360)	0.810 ^a
Lugar de origen del bovino	Nacido en la finca	127/148 (85.8)	0.177
	Nacido en otra finca	34/44 (77.3)	
Tiempo de permanencia del bovino en la finca (meses)	<8	46/53 (86.8)	0.605
	9-14	34/43 (79.1)	
	15-48	44/54 (81.5)	
Tipo de producción	>49	37/42 (88.1)	0.244
	Leche	53/59 (89.8)	
	Carne	81/98 (82.6)	
Frecuencia en el control de garrapatas en el ganado	Doble propósito o cría	27/35 (77.1)	0.583
	<90 días	128/152 (84.2)	
Productos para el control de garrapatas en el bovino	>90 días	33/40 (82.5)	0.385
	Ninguno	8/9 (88.9)	
	Organofosforados	36/40 (90)	
	Piretroides	14/16 (87.5)	
	Lactonas macrocíclicas	27/32 (84.3)	
	Amidinas	18/23 (78.2)	
	Mezclas	50/64 (78.1)	
Otros	8/8 (100)		
Método de control de garrapatas	Ninguno	1/1 (100)	0.770
	Producto en lomo	15/16 (93.7)	
	Aspersión manual y automática	19/24 (79.2)	

	Producto en lomo y baño	7/8 (87.5)	
	Aspersión automática	105/127 (82.7)	
	Inyección	14/16 (82.3)	
Conteo de garrapatas	<10	73/83 (87.9)	0.178
	>11	88/109 (80.7)	

n: número de positivos para la detección molecular de *Babesia* spp.

N: Población total en la variable.

Me: Media

En negrita, valor $p < 0.25$

^a Test de Mann-Whitney

Tabla 8. Análisis multivariado de las características asociadas y factores de riesgo previamente descritos para la detección molecular de *Babesia* spp. en bovinos.

	Variable	RP (95% IC)	RPa (95% IC)	Valor <i>p</i>
Edad (meses)	>20			
	10-19	0.94 (0.81-1.09)	1.04 (0.82-1.32)	0.713
	<9	1.05 (0.94-1.17)	1.18 (1.05-1.33)	0.004
Raza	<i>Bos indicus</i>			
	<i>Bos taurus</i> y criollos	1.00 (0.92-1.09)	1.00 (0.85-1.16)	0.995
	Cruces de razas	0.89 (0.70-1.11)	0.87 (0.72-1.05)	0.163
Lugar de origen del bovino		0.90 (0.65-1.24)	0.94 (0.71-1.23)	0.658
Tipo de producción	Carne			
	Leche	1.08 (1.01-1.16)	1.19 (1.06-1.34)	0.003
	Doble propósito o cría	0.93 (0.65-1.32)	0.97 (0.69-1.37)	0.902
Conteo de garrapatas (>11)		0.91 (0.78-1.07)	0.91 (0.83-1.01)	0.100

Valor en negrita: $p < 0.05$

4. Discusión

El crecimiento exponencial de las poblaciones humanas y la expansión a hábitats silvestres, han favorecido la transmisión e infectividad de algunos microorganismos a otros huéspedes y en el transcurso de los años estas han logrado ser detectadas en humanos (47–49). *Babesia* spp. presenta una amplia variedad de hospederos mamíferos domésticos y de vida silvestre, por lo que se ha sugerido que las infecciones por *Babesia* spp. en poblaciones humanas podrían ser más frecuentes de lo que se cree (50).

Mediante el análisis molecular ejecutado en la presente investigación se evidenció la presencia de *Babesia* spp. en bovinos y ganaderos del Magdalena Medio antioqueño con una frecuencia de 83.9% (161/192) y de 14.8% (21/143), respectivamente. La exposición en humanos específica para algunas especies de este hemoparásito, ha sido descrita previamente en Colombia. Se ha reportado la detección de *B. bigemina* y *B. bovis*, en Puerto Berrio; donde se detectó la frecuencia de anticuerpos IgM e IgG anti- *B. bigemina* con una frecuencia del 1.03% (2/194) y de anticuerpos IgM contra *B. bovis* del 1.54% (3/194) e IgG del 0.51% (1/194) (33) en personas con exposición a factores de riesgo como el contacto directo con animales.

Estas especies fueron posteriormente identificadas molecularmente en humanos implicadas en la producción ganadera de los municipios de Turbo y Necoclí, por medio de la amplificación de un fragmento del gen 18S RNAr de *Babesia* spp. La prevalencia reportada fue del 2% (6/300) para *B. bovis* y del 0.6% (2/300) para *B. bigemina*, aunque una limitación de este estudio es que no mostró evidencia de confirmación por análisis de secuencias de los amplicones (51). En el presente estudio, el análisis de identidad de secuencias y el análisis de filogenia molecular realizado, permite sugerir la circulación de *B. bigemina* en humanos con exposición ocupacional a la ganadería.

Por otra parte, aunque no se detectaron infecciones agudas por *Babesia* spp. en los pSFA-SEOG, mediante el análisis serológico efectuado en este grupo de estudio si se evidenció la exposición previa a *B. microti* con una frecuencia de seropositividad de 10.7% (23/215), inferior a lo reportado en un estudio reportado en el año 2008 en los municipios de Cereté y Montería, en el que se estableció un porcentaje de seropositividad del 30.6% (23/80) para la detección de anticuerpos IgG anti- *B. microti* (32). De ahí que se pueda sugerir que en esta

zona de Colombia existe exposición a este parásito y seguirá siendo pertinente definir en nuestro medio si las infecciones por *Babesia* spp. en los pacientes inmunocompetentes se están comportando de forma asintomática o con un cuadro clínico autolimitado, como ha sido observado en otros estudios (44). Sin embargo, el alcance de la presente investigación no permite descartar el papel que puedan estar cumpliendo los parásitos del género *Babesia* como agentes etiológicos de cuadros clínicos febriles en diferentes zonas del país.

La frecuencia de detección molecular de *Babesia* spp. en bovinos (161/192; 83.9%) fue similar a la encontrada previamente en la misma zona ganadera, donde se obtuvo un porcentaje de positividad del 70% (84/120) en terneros de 3 a 9 meses de edad (21) y del 88.6% (682/770) en especímenes de garrapatas *Rhipicephalus microplus*, especie implicada en la transmisión de *Babesia* sp. en la ganadería bovina del país (20,21).

Los resultados de este estudio en bovinos concuerda con lo encontrado en la investigación realiza por Segura (2020) de forma paralela a este, en los mismos bovinos y fincas analizados en la presente investigación. Segura (2020) estableció la presencia de *Babesia* spp. en larvas y especímenes adultos de garrapatas *R. microplus*, las cuales se encontraban en los potreros de las fincas e infestando los bovinos, (52). Mediante análisis de secuencias de ADN logró identificar infección natural por *B. bigemina* en las garrapatas, lo que concuerda con lo encontrado en este estudio, donde dos de las tres secuencias obtenidas de las muestras de sangre de los bovinos, correspondieron a esta misma especie de *Babesia*.

Una de las secuencias de ADN obtenidas en esta investigación presentó un porcentaje de identidad del 87% con secuencias de *B. bovis* registradas en la base de datos del NCBI, y aunque este valor es relativamente bajo, en el análisis de filogenia molecular esta secuencia se agrupó con otra de *B. bovis* reportada en Estados Unidos, lo que permite respaldar la identidad de la secuencia obtenida de la muestra de sangre del bovino (Figura 4). Además, como ya se ha mencionado en el trabajo, en la región existen investigaciones previas que reportan la presencia de esta especie circulando tanto en bovinos, como en garrapatas de la zona (21).

Para la identificación molecular de especies de protozoos, varios estudios sugieren la secuenciación completa del 18S RNAr (49,53) e incluso del genoma mitocondrial (54) y de regiones ITS (48) para mejorar la resolución o especificidad en la identificación de especies

(53). Sin embargo, el análisis de secuencias parciales del marcador molecular 18S RNAr, sigue siendo aceptado, mientras se logra un acceso más generalizado a tecnologías que faciliten la secuenciación de fragmentos más grandes y se aumenta el depósito de secuencias de ADN correspondientes a especímenes provenientes de diferentes regiones del mundo (55) que puedan dar cuenta de la diversidad existente.

De la región del Magdalena Medio, Puerto Berrio ha sido identificado como un municipio con áreas de estabilidad enzoótica para *Babesia* sp. (17), donde existe un estado de equilibrio entre el proceso infeccioso y la adquisición de inmunidad por parte de los hospedadores bovinos. Esta estabilidad implica que desde una edad temprana los bovinos se infectan con el parásito y debido a la inmunidad pasiva transferida por la madre, no manifiestan signos y síntomas clínicos asociados (56). En este escenario, también se debe considerar que la piel de los terneros es más delgada que la de los bovinos mayores, lo que facilita la penetración del hipostoma del vector (57). Por lo tanto, como se observa en el presente estudio, los bovinos con una edad menor a 9 meses presentaron una mayor frecuencia de infección por *Babesia* spp. en comparación con bovinos de edades mayores.

Otro de los factores asociados con la positividad por *Babesia* spp. detectada en este estudio, fue pertenecer al grupo de bovinos de razas destinadas a la producción lechera, lo cual concuerda con la literatura científica que refiere que los bovinos dedicados a la explotación de leche (*Bos taurus*) y sus cruces son más susceptibles a la infestación por garrapatas que las razas destinadas a la producción de carne (*Bos indicus*), y por consiguiente, pueden estar más expuestos a la transmisión de agentes transmitidos por garrapatas (57,58).

Los resultados de la presente investigación aportan al conocimiento de la dinámica de transmisión de este parásito en las zonas estudiadas. Sin embargo, sigue siendo pertinente la ejecución de estudios futuros que conlleven a una búsqueda más activa de este protozoo como agente etiológico de cuadros clínicos de síndrome febril agudo en humanos, así como de enfermedad en los bovinos. Es importante direccionar investigaciones adicionales en campo que evalúen los diversos aspectos del ciclo de vida de este hemoparásito, los diferentes elementos ecológicos relacionados con el vector, el papel de otros hospederos vertebrados en el ciclo de vida del parásito, la capacidad y competencia vectorial de las distintas especies de garrapatas presentes en la zona y su implicación en la transmisión a los

humanos, así como la descripción de reservorios, domésticos y silvestres, y demás aspectos que permitan esclarecer mejor la dinámica de transmisión que pueda estar sucediendo en la región (Figura 5).

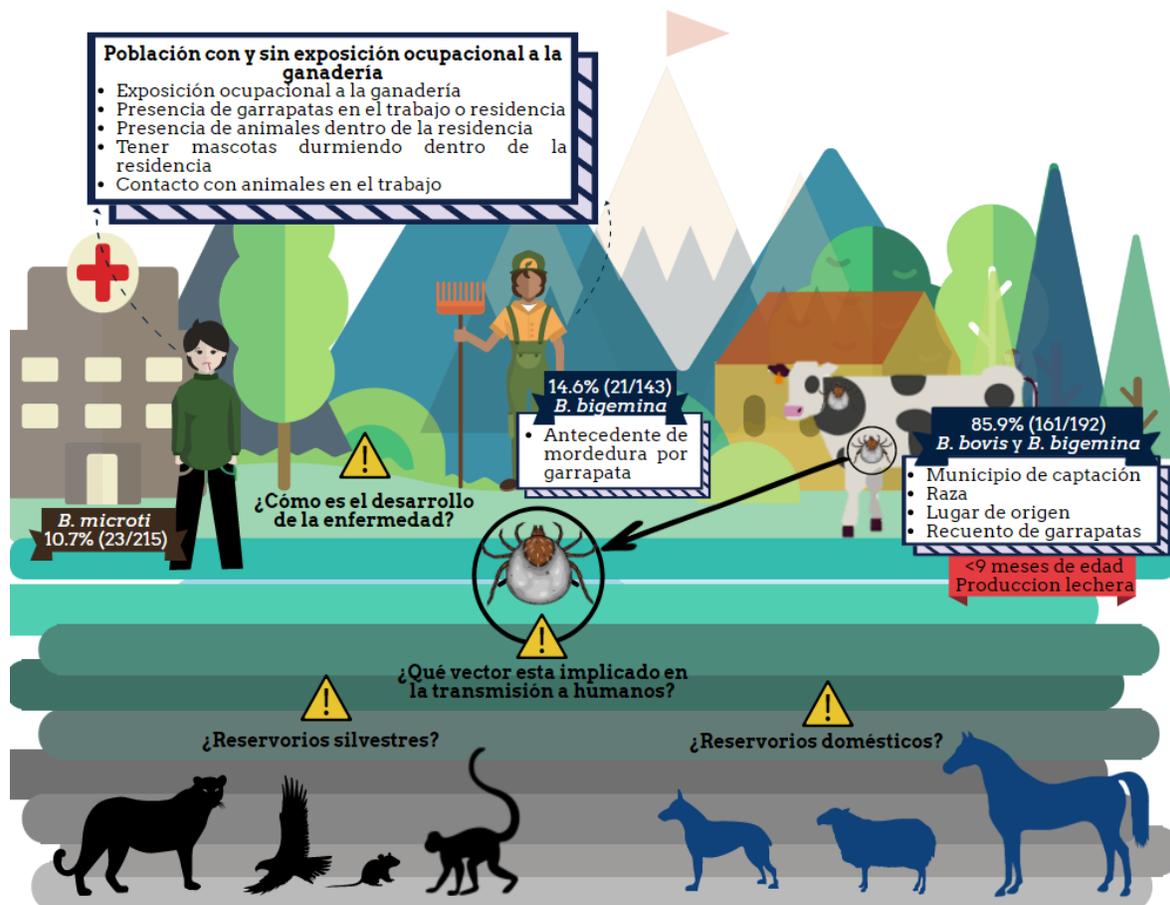


Figura 5. Esquematización de resultados y perspectivas de investigación en el escenario de los grupos poblacionales y la zona estudiada. Elaboración propia usando el programa © Piktochart 2020. (Powered by Help Scout). Los recuadros azules, indican la frecuencia de detección de *Babesia* spp, por PCR y las especies identificadas mediante el análisis de las secuencias de ADN obtenidas en ganaderos y bovinos. El recuadro café corresponde a la frecuencia de detección de anticuerpos IgG anti-*B. microti* en pSFA-SEOG. Los recuadros blancos indican los factores relacionados con la exposición a *Babesia* spp. y el recuadro rojo, los factores asociados a la detección molecular de *Babesia* spp. en los bovinos. Los triángulos amarillos señalan algunas preguntas de investigación que podría ser abordadas en estudios posteriores.

Conclusiones y perspectivas de investigación

La detección de las especies *B. bovis* y *B. bigemina*, en bovinos, de *B. bigemina* en personas con exposición ocupacional a la ganadería, así como la detección de anticuerpos IgG contra *B. microti* en pSFA-SEOG sugiere la circulación y exposición activa a diferentes especies de *Babesia* en la región del Magdalena Medio antioqueño. Es pertinente iniciar investigaciones para esclarecer cual es el vector implicado en la transmisión de este parásito en la población general y la existencia de otros hospederos vertebrados que estén facilitando la exposición que se evidenció en personas sin exposición ocupacional a la ganadería. De esta forma, se podría generar un modelo de vigilancia epidemiológica, que permita definir el impacto real de la babesiosis en el territorio, tanto en la salud humana como en el bienestar animal.

Limitaciones

Los estudios transversales como este, no permiten evaluar causalidad de las variables analizadas al no cumplirse con el criterio de temporalidad; no obstante, este tipo de investigaciones ayudan a generar hipótesis para subsecuentes estudios. Entre las limitaciones que pueden declararse en los aspectos técnicos, se puede considerar que al no haberse realizado la detección de anticuerpos IgG específicos para *B. microti* en las personas con exposición ocupacional a la ganadería y la secuenciación de todas las muestras de bovinos y humanos que resultaron positivas en la detección molecular de *Babesia* spp., no se puede determinar con mayor precisión la frecuencia de infección por especie ni detectar otras especies que pueden estar circulando en los tres grupos poblacionales estudiados.

Datos de investigación

Los datos de las secuencias 18S ARNr obtenidos en esta investigación están disponibles a través del NCBI con los números de acceso: MW227624 -MW227631.

Agradecimientos

A las UMATAs (Unidades Municipales de Asistencia Técnica Agropecuaria) y las asociaciones ganaderas COREGAN (Comité Regional de Ganaderos de Puerto Berrio), COOLETRIUNFO (Cooperativa Multiactiva de Leche de Puerto Triunfo), APAGRONAR (Asociación de Productores Agropecuarios de Puerto Nare), y la cooperativa COLANTA por el apoyo logístico brindado durante los procedimientos de muestreo en la región del Magdalena Medio. A la institución de salud donde se realizó la captación de pSFA-SEOG y el procesamiento inicial de las muestras para su derivación a Medellín. A la Secretaría de Salud de Puerto Berrio, Consejo Departamental de Zoonosis de la Dirección de Factores de Riesgo de la Gobernación de Antioquia por el apoyo logístico para la ejecución de esta investigación. A AGROSAVIA por la donación de las muestras de *B. bovis* y *B. bigemina* utilizadas como control positivo en todas las reacciones de amplificación de ADN realizadas en el presente estudio. A Kathleen L. Chavarría (KLCH) y a Ruth Cabrera (RC), por el apoyo en los análisis estadísticos y en los análisis serológicos y moleculares, respetivamente.

Financiamiento

Este estudio fue apoyado por el Ministerio de Ciencia Tecnología e Innovación (Minciencias) bajo los contratos 692-2017 (CIDI UPB número 020C-01/18 -65 de LAG) y 692-2017 (CIDI UPB número 020C-01/ 18-65 de LAG). El proyecto financiado por el SGR (Sistema General de Regalías) BPIN 2020000100131 financió a KLCH y RC como estrategia de fortalecimiento en investigación para la UPB. Los patrocinadores no tuvieron ninguna participación en el diseño del estudio, la recopilación de datos, el análisis y la preparación del manuscrito.

Referencias

1. Jalovecka M, Sojka D, Ascencio M, Schnittger L. *Babesia* Life Cycle – When Phylogeny Meets Biology. *Trends Parasitol.* 2019;35(5):356–68.
2. Onyiche TE, Răileanu C, Fischer S, Silaghi C. Global Distribution of *Babesia* Species in Questing Ticks: A Systematic Review and Meta-Analysis Based on Published Literature. *Pathogens.* 2021 Feb 1;10(2):1–26.
3. Chauvin A, Moreau E, Bonnet S, Plantard O, Malandrin L. *Babesia* and its hosts: Adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet Res.* 2009;40(2):37.
4. Carpi G, Walter KS, Mamoun C Ben, Krause PJ, Kitchen A, Lepore TJ, et al. *Babesia microti* from humans and ticks hold a genomic signature of strong population structure in the United States. *BMC Genomics.* 2016;17 (1)(1):888.
5. Azagi T, Jaarsma R, Leeuwen A, Fonville M, Maas M, Franssen F, et al. Circulation of *Babesia* species and their exposure to humans through *Ixodes ricinus*. *Pathogens.* 2021 Apr 1;10 (4)(4).
6. Souza F, Liarte A, Castro K, Beserra E, Bernardi J, Sousa G, et al. Dynamics of natural infection by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in dairy cattle from an enzootic instability area in Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária.* 2018;27(1):2–6.
7. Donnelly J, Peirce MA. Experiments on the transmission of *Babesia divergens* to cattle by the tick *Ixodes ricinus*. *Int J Parasitol.* 1975;5(3):363–7.
8. Howell JM, Ueti MW, Palmer GH, Scoles GA, Knowles DP. Transovarial transmission efficiency of *Babesia bovis* tick stages acquired by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* during acute infection. *J Clin Microbiol.* 2007 Feb;45(2):426–31.
9. Yin H, Lu W, Luo J, Zhang Q, Lu W, Dou H. Experiments on the transmission of *Babesia major* and *Babesia bigemina* by *Haemaphysalis punctata*. *Vet Parasitol.* 1996 Dec 2;67(1–2):89–98.

10. Luo J, Chen F, Lu W, Guan G, Ma M, Yin H. Experimental transmission of an unnamed bovine *Babesia* by *Hyalomma* spp., *Haemaphysalis longicornis* and *Boophilus microplus*. *Vet Parasitol.* 2003 Oct 8;116(2):115–24.
11. Schwint ON, Knowles DP, Ueti MW, Kappmeyer LS, Scoles GA. Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) Is Restricted to One Generation in the Absence of Alimentary Reinfection on a Susceptible Equine Host. *J Med Entomol.* 2008 Nov 1;45(6):1152–5.
12. Gray JS, Estrada A, Zintl A. Vectors of Babesiosis. *Annu Rev Entomol.* 2019 Jan 10;64:149–65.
13. Gunders AE. Piroplasmal sporozoites in the Argasid *Ornithodoros erraticus* (Lucas). *Experientia.* 1977 Jul;33(7):892–3.
14. Rodriguez R, Grisi L, Pérez A, Silva H, Torres J, Fragoso H, et al. Potential economic impact assessment for cattle parasites in Mexico. *Rev MEx.* 2017;8:61–74.
15. Kivaria FM. Estimated direct economic costs associated with tick-borne diseases on cattle in Tanzania. *Trop Anim Heal Prod.* 2006;38(4):291–9.
16. Guglielmone AA, Aguirre DH, Späth EJA, Gaido AB, Mangold AJ, de Ríos LG. Long-term study of incidence and financial loss due to cattle babesiosis in an Argentinian dairy farm. *Prev Vet Med.* 1992 Mar 1;12(3–4):307–12.
17. Ríos L, Zapatas R, Mejía J, Baena J. Estabilidad enzoótica de babesiosis bovina en la región de Puerto Berrío, Colombia. *Rev cient.* 2010;20(5):485–92.
18. Abdela N, Ibrahim N, Begna F. Prevalence, risk factors and vectors identification of bovine anaplasmosis and babesiosis in and around Jimma town, Southwestern Ethiopia. *Acta Trop.* 2018;177:9–18.
19. Benavides E, Vizcaíno O, Polanco N, Mestra A, Betancur O. Efecto terapéutico de un fármaco frente a los hemoparásitos del bovino *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* y *Anaplasma marginale*. *CES Med Vet y Zootec.* 2012;7(1):33–48.
20. Jaimes J, Triana O, Holguín A, Tobon A, Mejía AM. Molecular surveillance and

phylogenetic traits of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in cattle (*Bos taurus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Colombia. Parasit Vectors. 2018 Dec 12;11(1):510.

21. Ríos-Tobón S, Gutiérrez LA, Ríos LA. Assessing bovine babesiosis in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks and 3 to 9-month-old cattle in the middle Magdalena region, Colombia. Pesqui Veterinária Bras. 2014;34(4):313–9.
22. Bolaños I, Hernandez D, Álvarez L. Asociación de los alelos del gen BoLA-DRB3 con la infección natural de *Babesia* spp en el ganado criollo Hartón del Valle. Arch Zootec. 2017;66(253):113–20.
23. Martínez-Mercado MR, Caraballo-Blanco LE, Blanco-Tuirán PJ. *Babesia bigemina* en bovinos del municipio Los Palmitos (Sucre, Colombia). Corpoica Cienc y Tecnol Agropecu. 2019;20(1):41–52.
24. Zapata R, Lara N, Baena A, Reyes J, Ríos L. Seroprevalencia de babesiosis bovina en la hacienda Vegas de la Clara, Gómez Plata (Antioquia), 2008. Rev Med Vet (Bogota). 2011;21:63–71.
25. López L, Flórez S, Múnera A, Ríos S. Evaluación de la infección por *Babesia* spp. en garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y la infestación en bovinos de 3 a 9 meses de edad en 9 hatos. Hechos Microbiol. 2012;3(2):37–44.
26. Spielman A. Human babesiosis on Nantucket Island: transmission by nymphal *Ixodes* ticks. Am J Trop Med Hyg. 1976;25(6):784–7.
27. Bonnet S, Brisseau N, Hermouet A, Jouglin M, Chauvin A. Experimental in vitro transmission of *Babesia* sp. (EU1) by *Ixodes ricinus*. Vet Res. 2009 May;40:21–9.
28. Akel T, Mobarakai N. Hematologic manifestations of babesiosis. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2017 Feb 15;16 (6).
29. Mørch K, Holmaas G, Frolander PS, Kristoffersen EK. Severe human *Babesia divergens* infection in Norway. Int J Infect Dis. 2015 Apr 1;33:37–8.
30. Scott JD, Sajid MS, Pascoe EL, Foley JE. Detection of *Babesia odocoilei* in Humans

with Babesiosis Symptoms. *Diagnostics*. 2021 Jun 1;11(6):947.

31. Hatcher JC, Greenberg PD, Antique J, Jimenez-Lucho VE. Severe babesiosis in Long Island: Review of 34 cases and their complications. *Clin Infect Dis*. 2001 Apr 15;32(8):1117–25.
32. Buelvas F, Alvis N, Buelvas I, Miranda J, Mattar S. Alta Prevalencia de Anticuerpos contra *Bartonella* y *Babesia microti* en poblaciones rurales y urbanas en dos provincias de Córdoba, Colombia. *Rev salud pública*. 2008;10(1):169–77.
33. Ríos L, Alvarez G, Blair S. Serological and parasitological study and report of the first case of human babesiosis in Colombia. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36(4):493–8.
34. Riera M, Rojas M, Zapata P. Protocolo de extracción de DNA por salting-out para pequeños volúmenes de sangre. *Rev Cienc y Tecnol*. 2010;14:4–7.
35. Sobotta K, Hillarius K, Jiménez PH, Kerner K, Heydel C, Menge C. Interaction of *Coxiella burnetii* strains of different sources and genotypes with bovine and human Monocyte-Derived Macrophages. *Front Cell Infect Microbiol*. 2018 Jan 12;7.
36. Liu J, Guan G, Li Y, Liu A, Luo J, Yin H. A Molecular Survey of *Babesia* species and detection of a new *Babesia* species by DNA related to *B. venatorum* from White Yaks in Tianzhu, China. *Front Microbiol*. 2017 Mar 14;8:419.
37. Centeno S, do Rosario V, Parreira R, Maia AJ, Freudenthal AM, Nijhof AM, et al. A fatal case of human babesiosis in Portugal: molecular and phylogenetic analysis. *Trop Med Int Heal*. 2003 Aug;8(8):760–4.
38. Krause PJ, Telford SR, Ryan R, Conrad PA, Wilson M, Thomford JW, et al. Diagnosis of babesiosis: Evaluation of a serologic test for the detection of babesia microti antibody. *J Infect Dis*. 1994;169(4):916–23.
39. Baneth G, Nachum-Biala Y, Birkenheuer AJ, Schreeg ME, Prince H, Florin-Christensen M, et al. A new piroplasmid species infecting dogs: Morphological and molecular characterization and pathogeny of *Babesia negevi* n. sp. *Parasites and Vectors*. 2020;13:130–43.

40. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*. 2012 Aug;9(8):772.
41. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 2018 Jun 1;35(6):1547–9.
42. Paul P, Pennell ML, Lemeshow S. Standardizing the power of the Hosmer-Lemeshow goodness of fit test in large data sets. *Stat Med*. 2013 Jan 15;32(1):67–80.
43. Linden J V., Prusinski MA, Crowder LA, Tonnetti L, Stramer SL, Kessler DA, et al. Transfusion-transmitted and community-acquired babesiosis in New York, 2004 to 2015. *Transfusion*. 2018 Mar 1;58(3):660–8.
44. Moniuszko A, Swiecicka I, Dunaj J, Zajkowska J, Czupryna P, Zambrowski G, et al. Infection with *Babesia microti* in humans with non-specific symptoms in North East Poland. Vol. 48, *Infectious Diseases*. Taylor and Francis Ltd.; 2016. p. 537–43.
45. Ola S, Kumar R, Abdurazak D, Gimba F, Jesse F, Adbullah R. The molecular prevalence, distribution and risk factors associated with *Babesia bigemina* infection in Peninsular Malaysia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2021 May 1;12(3):101653.
46. Amorim L, Wenceslau A, Carvalho F, Carneiro P, Albuquerque G. Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. *Rev Bras Parasitol Veterinária*. 2014;23 (3):328–36.
47. Pietrobelli M, Cancrini G, Moretti A, Tampieri MP. Animal babesiosis: an emerging zoonosis also in Italy? *Parassitologia*. 2007;49 Suppl 1:33–8.
48. Conrad PA, Kjemtrup AM, Carreno RA, Thomford J, Wainwright K, Eberhard M, et al. Description of *Babesia duncani* n.sp. (Apicomplexa: Babesiidae) from humans and its differentiation from other piroplasms. *Int J Parasitol*. 2006;36(7):779–89.
49. Herwaldt BL, Cacciò S, Gherlinzoni F, Aspöck H, Slemenda SB, Piccaluga P, et al. Molecular characterization of a non-*Babesia divergens* organism causing zoonotic babesiosis in Europe. *Emerg Infect Dis*. 2003;9(8):942–8.

50. Genchi C. Human babesiosis, an emerging zoonosis - PubMed. *Parassitologia*. 2007;49(1).
51. Gonzalez J, Echaide I, Pabón A, Gabriel Piñeros Jj, Blair S, Tobón-Castaño A. Babesiosis prevalence in malaria-endemic regions of Colombia. *J Vector Borne Dis*. 2018;55(3):222.
52. Segura J. Diversidad de garrapatas de la familia Ixodidae en dos subregiones ganaderas de Antioquia: infección natural y análisis de la comunidad bacteriana intestinal y de glándulas salivales. Universidad Pontificia Bolivariana; 2020.
53. Lempereur L, Beck R, Fonseca I, Marques C, Duarte A, Santos M, et al. Guidelines for the Detection of *Babesia* and *Theileria* Parasites. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2017;17(1):51–65.
54. Schreeg ME, Marr HS, Tarigo JL, Cohn LA, Bird DM, Scholl EH, et al. Mitochondrial Genome Sequences and Structures Aid in the Resolution of Piroplasmida phylogeny. *PLoS One*. 2016;11(11).
55. Santodomingo AM, Thomas RS, Quintero-Galvis JF, Echeverry-Berrio DM, la Fuente MCS, Moreno-Salas L, et al. Apicomplexans in small mammals from Chile, with the first report of the *Babesia microti* group in South American rodents. *Parasitol Res*. 2022;121(3):1009–20.
56. Regassa A, Penzhorn B, Bryson N. Attainment of endemic stability to *Babesia bigemina* in cattle on a South African ranch where non-intensive tick control was applied. *Vet Parasitol*. 2003;116(4):267–74.
57. Torres A, Lara M, Páez R. Factores que influyen en la presentación actual de *Anaplasma* sp. y *Babesia* spp. en bovinos en el trópico. *Biociencias*. 2021;5(1):155–81.
58. Herrera M, Soto Á, Urrego V, Rivera G, Zapata M, Rios L. Frecuencia de hemoparásitos en bovinos del bajo Cauca y alto San Jorge. 2000 – 2005. *Rev MVZ Córdoba*. 2008 Oct 1;13(3).

**Detección molecular de *Babesia* spp. y factores asociados en personas y bovinos de la
región del Magdalena Medio, Colombia**

ANEXOS Y PRODUCTOS DE APROPIACIÓN SOCIAL DEL CONOCIMIENTO